

CHRISTIANE SILVA SOUZA

**PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E PRODUTIVOS DE CODORNAS
JAPONESAS, EM POSTURA, SUPLEMENTADAS COM
1,25-DIHIIDROXIVITAMINA-D₃-GLICOSÍDEO DE ORIGEM VEGETAL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Bioquímica Aplicada, para obtenção
do título de Doctor Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

S729p
2016 Souza, Christiane Silva, 1984-
Parâmetros fisiológicos e produtivos de codornas japonesas,
em postura, suplementadas com
1,25-dihidroxitamina-D3-glicosídeo de origem vegetal /
Christiane Silva Souza. – Viçosa, MG, 2016.
xvi, 110f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Maria Goreti de Almeida Oliveira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. *Coturnix coturnix japonica*. 2. Codornas. 3. Vitaminas na nutrição animal. 4. Minerais na nutrição animal. 5. Fosfatase alcalina. 6. Ovos - Qualidade. 7. *Solanum glaucophyllum*.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular. Programa de Pós-graduação em Bioquímica Aplicada. II. Título.

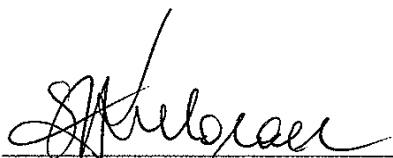
CDD 22. ed. 636.594

CHRISTIANE SILVA SOUZA

**PARÂMETROS FISIOLÓGICOS E PRODUTIVOS DE CODORNAS
JAPONESAS, EM POSTURA, SUPLEMENTADAS COM
1,25-DIHDROXIVITAMINA-D₃-GLICOSÍDEO DE ORIGEM VEGETAL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada, para obtenção do título de Doctor *Scientiae*.

APROVADA: 29 de fevereiro de 2016.



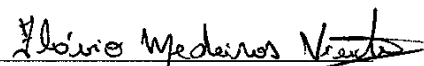
George Henrique Kling de Moraes
(Coorientador)



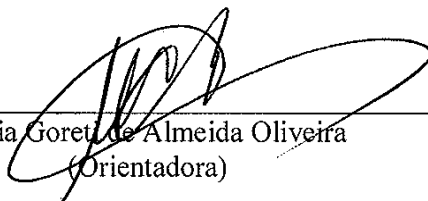
Sérgio Luiz de Toledo Barreto
(Coorientador)



Arele Arlindo Calderano



Flávio Medeiros Viçes



Maria Gorete de Almeida Oliveira
(Orientadora)

Dedico àquele que é digno de toda honra e toda glória... **DEUS!**

Quando a alma está feliz e agradecida pelo que recebemos de bom na vida, a prosperidade cresce, a saúde melhora, as amizades aumentam, o mundo fica de bem com você porque o mundo exterior reflete nosso mundo interior! [Mahatma Gandhi]

Para quem olha a vida com bons olhos, a felicidade é natural, não precisa de motivo. É um hábito que precisa ser cultivado. Enxergar as coisas boas que possui, não absorver os problemas dos outros sabendo que cada um responde por si, alivia e acalma. Saber esperar, fazer o melhor, acreditar que a vida sabe mostrar a cada um o que precisa aprender é ficar em paz e enfrentar os desafios do amadurecimento com inteligência. Tudo é natural, faz parte da vida. Experimente e seja feliz! [Zibia Gasparetto]

O trabalho vai ocupar uma grande parte da sua vida e a única forma de ser realmente feliz é fazer o que você acredita que seja um ótimo trabalho. E a única forma de fazer um ótimo trabalho é amar o que você faz. Se você ainda não encontrou, continue procurando. Não se acomode. Assim como tudo relacionado ao seu coração, você saberá quando encontrar! [Steve Jobs]

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a DEUS, pela concessão de saúde e paz, bem como por sempre me reger, iluminar e capacitar. Agradeço a enorme compreensão da minha família (Valdemir, Marina e Débora), que com muito amor entenderam as minhas constantes ausências.

À minha orientadora, professora Maria Goreti de Almeida Oliveira, pelo exemplo de profissionalismo, pelo acolhimento, apoio e pela confiança.

Aos meus coorientadores, professor George Henrique Kling de Moraes e professor Sérgio Luiz de Toledo Barreto, pela confiança, por toda infraestrutura disponibilizada (laboratórios, galpão experimental, animais, rações, reagentes), ensinamentos e por todo incentivo que foi distinguido durante o período do curso e principalmente no preparo dos artigos científicos.

Ao professor Flávio Medeiros Vieites, pela amizade, carinho, conversas, atenção, pelas sugestões e ajuda nas análises estatísticas, e principalmente pelos frutos de nossa parceria profissional (capítulos, palestras, artigos).

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (DBB) e ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada, pela realização do curso.

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

Ao professor Arele Arlindo Calderano pelo acompanhamento dos experimentos a campo, sugestões, correções nos artigos científicos. Ao pesquisador da EMBRAPA Gado de Leite de Juiz de Fora-MG, Márcio Roberto Silva, pela ajuda nas análises e estatísticas dos resultados.

À professora Luciana Navajas Rennó pela preciosa ajuda na realização das análises bioquímicas séricas, no Laboratório de Fisiologia e Reprodução Animal (DZO/UFV). Ao funcionário Mário Pereira e amiga Fernanda pela ajuda nas análises do sangue.

À Silvana Marques Pastore, pela importante ajuda na formulação das rações e sugestões acerca da escrita dos artigos. Aos amigos de Pós-Graduação: Mateus Gandra e Thiago Souza Onofre, pelos dias de estudo e toda ajuda nas disciplinas.

Ao Laboratório de Celulose e Papel, do Departamento de Engenharia Florestal da UFV, pela concessão de uso da máquina de universal de ensaios mecânicos, para a determinação da resistência dos ossos das aves.

Às mineiras: Fernanda Rodrigues Nascimento e Ângela Santos de Paula, pelas inúmeras risadas e carinho. Ao Eduardo Monteiro (Du), grande incentivador dos meus estudos. Ao Marco Aurélio, pela amizade.

À toda equipe executora (estagiários), nos experimentos a campo: Warley, Emanuele Brusamarelo (Manu), Tamara, Lívia, Raquel, Regiani, Gustavo e Silvana; nas análises laboratoriais: Laisse, Gabriel, Clarice e Maria Luiza. Aos funcionários do Setor de Avicultura (DZO/UFV): Adriano, Elísio e Joselino, pela atenção e ajuda atribuída.

À Juliana Andrea Parra Salinas (Juzinha), pela amizade, atenção, conversas, viagens, fotos, publicações, estudos... Foi tudo mais leve e divertido com você. À Celma Maria Ferreira (Celminha) pelo companheirismo, palavras de Fé, caminhadas e ajuda nas análises.

Em especial, gostaria de agradecer ao Gabriel da Silva Viana (Macaé), pela ajuda imensurável na execução dos experimentos a campo, por toda orientação técnica (elaboração de rações, delineamentos e avaliações estatísticas); bem como ao Jorge Cunha Lima Muniz, que ensinou pacientemente todos os procedimentos analíticos para avaliação da qualidade de ovos. Faço das palavras de Isaac Newton, as minhas: “Se enxerguei mais longe, foi porque me apoiei sobre os ombros de gigantes”... vocês são gigantes!

O sentimento de gratidão é gigantesco, àquele que contribuiu de todas as formas possíveis para a execução desse projeto de pesquisa, o técnico e excelente amigo Jefferson Dias, que ofertou todo suporte para a realização das análises laboratoriais, desde o manuseio dos equipamentos até os lanches, as caronas, as conversas, dentre muitas outras ajudas. Ao Laboratório de Bioquímica Animal – LBA, que foi praticamente minha residência durante os anos de 2012, 2013, 2014 e 2015.

Agradeço cordialmente ao Anderson de Almeida Barbosa, que contribuiu com orientação técnica para a elaboração do projeto de pesquisa, bem como para a condução das análises laboratoriais; e orientação acadêmica, durante o período de curso das disciplinas obrigatórias.

À Priscila Paula de Almeida Ferreira (Pri), minha amiga-irmã, um verdadeiro presente de DEUS, pessoa muito valiosa, que esteve ao meu lado durante todos os momentos (felizes, engraçados, tristes), dando muita alegria e incentivo para minha vida. Sou extremamente grata por todos os ensinamentos, dicas, compartilhamentos de livros, textos, fotos, vídeos, áudios, acerca dos mais distintos assuntos... tudo isso contribuiu decisivamente para o meu amadurecimento psicológico.

À Daniela Maria Araújo Adorno (Dani), também amiga-irmã, que sempre esteve ao meu lado, dando força e apoio para que eu seguisse esta jornada, sendo grande incentivadora dos meus sonhos.

Enfim, a todos que contribuíram para a realização deste... Gratidão!

BIOGRAFIA

CHRISTIANE SILVA SOUZA, filha de Marina da Silva Souza e Valdemir Souza Machado, nasceu em Rondonópolis, Mato Grosso em 20 de julho de 1984.

Em 2002, ingressou no curso de Administração de Empresas e Cooperativas Rurais, no Centro de Ensino Superior de Rondonópolis – CESUR / Faculdade do Sul de Mato Grosso – FACSUL, colando grau em dezembro de 2005.

Em 2006, iniciou no curso de Zootecnia pela Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT, Campus Rondonópolis, graduando-se em fevereiro de 2010.

Em 2009, recebeu o título de Especialização em Gestão Empresarial e Consultoria em Agronegócios, pelo CESUR/FACSUL.

Em 2010, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, em nível de Mestrado, na área de Produção Animal, pela UFMT – Campus Cuiabá, cuja defesa de Dissertação aconteceu em 10 de fevereiro de 2012.

Em 2012, iniciou no Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada, em nível de Doutorado, na área de Bioquímica Animal, pela na Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa-MG, submetendo-se a defesa de Tese para obtenção do título de Doctor Scientiae em 29 de fevereiro de 2016.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	x
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	01
2. JUSTIFICATIVA / RELEVÂNCIA	02
3. REVISÃO DE LITERATURA	03
3.1 Vitamina D: funções e metabolismo	03
3.2 Vitamina D ₃ e seus metabólitos na alimentação de aves de postura	07
3.3 Uso de vitamina D ₃ -glicosídeo de origem vegetal na avicultura	09
3.4 Cálcio (Ca) e fósforo (P) na nutrição de codornas japonesas	13
3.5 Ca e P e o desempenho produtivo e as características ósseas de codornas japonesas	17
3.5.1 Absorção do Ca e do P em aves de postura	20
3.6 Algumas considerações do Ca, P e 1,25(OH) ₂ D ₃ na fisiologia óssea e sanguínea	22
REFERÊNCIAS	27
4. HIPÓTESES	40
5. OBJETIVOS	41
5.1 Objetivo Geral	41
5.2 Objetivos Específicos	41
Capítulo 1. Desempenho, qualidade de ovos e biometria visceral de codornas japonesas suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal	42
Introdução	44
Material e métodos	45
Resultados e discussão	49
Conclusões	53
Referências	53
Capítulo 2. Características ósseas de codornas japonesas em postura suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal	57
Introdução	59
Material e métodos	60
Resultados e discussão	62
Conclusões	65
Referências	65
Capítulo 3. Níveis reduzidos de cálcio e fósforo em rações suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal para codornas japonesas em postura	68
Introdução	70
Material e métodos	71
Resultados e discussão	75
Conclusões	79
Referências	79

Capítulo 4. Características ósseas de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo níveis reduzidos de cálcio e fósforo e suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal ..	82
Introdução	84
Material e métodos	85
Resultados e discussão	87
Conclusões	93
Referências	94
Capítulo 5. Bioquímica sérica de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo níveis reduzidos de cálcio e fósforo disponível e suplemento de 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal	97
Introdução	100
Material e métodos	101
Resultados e discussão	101
Conclusões	106
Referências	106
6. CONCLUSÕES GERAIS	109
ANEXO A	110

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1,25(OH) ₂ D ₃	1,25 dihidroxicolecalciferol; vitamina D ₃ ativa
A	Albumina
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
A:G	Relação albumina:globulina
cAMP	3',5'-monofosfato cíclico; AMP cíclico
Ca	Cálcio
CaBP	Calbindina; proteína transportadora de cálcio
CaRS	Receptor sensível ao cálcio
Ca:P	Relação cálcio:fósforo
CT	Calcitonina
DMO	Densidade mineral óssea
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EFSA	European Food Safety Authority
FA	Fosfatase alcalina
FD	Fêmur direito
FE	Fêmur esquerdo
G	Globulinas
P	Fósforo
P _{disp}	Fósforo disponível
IS	Índice de Seedor
NRC	National Research Council
PC	Proteínas colagenosas
PNC	Proteínas não colagenosas
PT	Proteínas totais
PTH	Paratormônio
TRPV	Canal epitelial de cálcio
RB	Ração basal
RQ	Resistência à quebra
SG	Solanum glaucophyllum
SM	Solanum malacoxylon
SNK	Student-Newman-Kewls
TD	Tíbia direita
TE	Tíbia esquerda
UI	Unidades internacionais
VDR	Receptor de vitamina D
VDRE	Elemento de resposta de vitamina D

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Reações metabólicas envolvendo a vitamina D ₃ e seus locais de regulação. A via importante de síntese de 1,25(OH) ₂ D ₃ é indicada por setas em negrito. PTH = paratormônio	05
Figura 2. <i>Solanum glaucophyllum</i> na região de Poconé, Mato Grosso, Brasil ...	09
Figura 3. <i>Solanum glaucophyllum</i>	10
Figura 4. Representação da estrutura do 1,25(OH) ₂ D ₃ -glicosídeo proveniente de <i>Solanum glaucophyllum</i>	11

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais características e tipos de vitamina D usados na alimentação animal	08
Tabela 2. Níveis de suplementação de vitamina D ₃ recomendados para poedeiras	08
Tabela 3. Recomendações percentuais de Ca e P _{disp} para codornas japonesas em postura em diferentes estudos	16
Tabela 4. Exigências nutricionais para codornas japonesas em postura	16

RESUMO

SOUZA, Christiane Silva, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2016. **Parâmetros fisiológicos e produtivos de codornas japonesas, em postura, suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal.** Orientadora: Maria Goreti de Almeida Oliveira. Coorientadores: George Henrique Kling de Moraes e Sérgio Luiz de Toledo Barreto.

Objetivou-se estudar as variáveis produtivas e fisiológicas de codornas japonesas pós-pico de postura alimentadas com ração contendo suplemento de 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo (1,25(OH)₂D₃) de origem vegetal associado ou não aos níveis de cálcio (Ca) e fósforo disponível (P_{disp}) reduzidos. Dois experimentos foram conduzidos, sendo o primeiro num delineamento em blocos casualizados, com cinco tratamentos (0,0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração), com seis repetições e seis aves por unidade experimental (UE). O segundo experimento foi num delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x2), com seis tratamentos [1) ração basal (RB); 2) RB + 0,50 µg de 1,25(OH)₂D₃; 3) RB com redução em 15,0% de Ca e P_{disp}; 4) T3 + 0,50 µg de 1,25(OH)₂D₃; 5) RB com redução em 30,0% de Ca e P_{disp}; e 6) T5 + 0,50 µg de 1,25(OH)₂D₃], sete repetições e seis aves por UE. Os resultados do Experimento 1 mostraram que não houve efeito significativo (p>0,05) do 1,25(OH)₂D₃-glicosídeo sobre as características produtivas: consumo de ração, produção de ovos por ave dia e por ave alojada, ovos comercializáveis, peso médio do ovo, massa de ovos, conversão alimentar por dúzia e por massa de ovos. A adição de 0,75 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração proporcionou maior espessura e percentual de cinzas nas cascas dos ovos (p<0,05). Os pesos e os respectivos percentuais relativos do coração, fígado, moela e pâncreas, o comprimento intestinal e a excreção mineral não foram influenciados pela vitamina. Verificou-se que a composição orgânica (proteínas colagenosas – PC e totais – PT) e a resistência à quebra (RQ) dos ossos das aves com 47 semanas de idade alteraram-se com o 1,25(OH)₂D₃ adicional (p<0,05). A RQ das tíbias direitas das aves que receberam ração suplementada com 0,50 µg de 1,25(OH)₂D₃ foi 20% maior quando comparada com os demais tratamentos. Contudo, não houve modificação da qualidade óssea das aves, uma vez que a composição mineral – cinzas, Ca, P, relação Ca:P, a densidade óssea e os teores de proteínas não colagenosas não se modificaram. No Experimento 2, observou-se que a redução em 15% e 30% nos valores preconizados para Ca e P_{disp}, associada ou não ao 1,25(OH)₂D₃ nas rações não influenciou o desempenho produtivo, a qualidade de ovos e a biometria de vísceras das aves. O

percentual de cinzas nas cascas dos ovos, o peso do fígado, o Índice de Seedor e a RQ foram influenciados pelas reduções dietéticas de Ca e P_{disp} ($p < 0,05$). Houve interação significativa entre os níveis de Ca e P_{disp} x $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ adicional nas rações, para as quantidades de proteínas (PC, não colagenosas e PT) e cinzas ($p < 0,05$) nos fêmures. Apesar das alterações na constituição orgânica e mineral dos ossos, pode-se inferir que não houve desestabilização da matriz óssea das aves. Na avaliação da bioquímica sérica, não houve alteração nos componentes sanguíneos (proteínas totais, albumina (A), globulinas (G) e relação A:G), nos minerais (Ca, P e relação Ca:P) e nas aminotransferases (ALT e AST) das codornas japonesas em postura nos dois Experimentos. A atividade da fosfatase alcalina aumentou mediante a adição de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glicosídeo de origem vegetal nas rações. De modo geral, conclui-se que a adição de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glicosídeo de origem vegetal nas rações para codornas japonesas em postura de 36 a 45 semanas de idade (Experimento 1), não afetou os resultados produtivos, as excretas, a biometria de órgãos do aparelho digestório, bem como as variáveis ósseas e a bioquímica sérica. No Experimento 2, conclui-se que as codornas japonesas em pós-pico de postura (52 a 61 semanas de idade) alimentadas com ração contendo níveis reduzidos de Ca e P_{disp} (em 15 e 30%) associados ao suplemento de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glicosídeo de origem vegetal não tiveram os resultados produtivos e fisiológicos afetados pelos tratamentos.

ABSTRACT

SOUZA, Christiane Silva, D.Sc. Universidade Federal de Viçosa, February, 2016. **Physiological and productive parameters of Japanese quails in posture, supplemented with 1,25-dihydroxyvitamin-D₃-glycoside of plant origin.** Adviser: Maria Goreti de Almeida Oliveira. Co-advisers: George Henrique Kling de Moraes and Sérgio Luiz de Toledo Barreto.

It was studied the production and physiological variables production post-peak of laying Japanese quails fed diets containing supplement of 1,25-dihydroxyvitamin-D₃-glycoside (1,25(OH)₂D₃) of plant origin with or without calcium levels (Ca) and phosphorus available (_AP) reduced. Two trials were conducted, the first in a randomized block design with five treatments (0.0; 0.25; 0.50; 0.75 and 1.00 µg 1,25(OH)₂D₃/kg of ration) with six replicates and six birds per experimental unit (EU). The second experiment was a completely randomized design in a factorial scheme (3x2), with six treatments [1) basal diet (BD); 2) BD + 0.50 µg of 1,25(OH)₂D₃; 3) BD with reduction of 15.0% Ca and _AP; 4) T3 + 0.50 µg 1,25(OH)₂D₃; 5) BD with reduction of 30.0% Ca and _AP; and 6) T5 + 0.50 µg of 1,25(OH)₂D₃], seven replicates and six birds per EU. The results of Experiment 1 showed no significant effect (p>0.05) 1,25(OH)₂D₃-glycoside on production characteristics: feed intake, egg production per bird day per bird housed, commercial egg, average egg weight, egg mass, feed conversion per dozen and egg mass. The addition of 0.75 µg of 1,25(OH)₂D₃/kg ration provided greater thickness and percentage of ash in the eggshells (p<0.05). The weights and the corresponding percentage for the heart, liver, gizzard and pancreas, intestinal length and mineral excretion were not affected by the vitamin. It was found that the organic composition (collagenous – CP and total proteins – TP) and breaking resistance (BR) of the bones of the birds with 47 weeks of age modified with 1,25(OH)₂D₃ added (p<0.05). The BR of the right tibia of the birds fed chow supplemented with 0.50 µg of 1,25(OH)₂D₃ was 20% higher when compared to other treatments. However, there was no change in bone quality of the birds, since the mineral composition – ash, Ca, P, Ca: P ratio, the bone density and the levels of non collagenous proteins not modified. In Experiment 2, it was observed that the reduction by 15% and 30% in the recommended values for Ca and _AP, associated or not to 1,25(OH)₂D₃ in the diets did not affect the productive performance, egg quality and biometrics of bird entrails. The percentage of ash in the eggshells, liver weight, the Seedor index and BR are influenced by dietary calcium and _AP reductions (p<0.05). There was a significant interaction between the levels of Ca and _AP x 1,25(OH)₂D₃ in additional feed for the quantities of protein (CP, not collagenous and

TP) and ash ($p < 0.05$) in the femurs. Although the changes in the mineral and organic bone formation, it can be inferred that there is no destabilization of the bone matrix birds. In the assessment of serum biochemistry, there was no change in the blood components (total protein, albumin (A), globulin (G) and A:G ratio), minerals (Ca, P and Ca:P ratio) and the aminotransferases (ALT and AST) of laying Japanese quails in both experiments. The activity of alkaline phosphatase increased by the addition of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glycoside of plant origin in rations. Overall, it is concluded that the addition of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glycoside in diets for laying Japanese quails from 36 to 45 weeks of age (Experiment 1), did not affect the productive results, excreta, biometrics organs of the digestive system and bone variables and serum biochemistry. In Experiment 2, it is concluded that Japanese quails in post-peak production (52 to 61 weeks of age) fed diet with reduced levels of Ca and A_P (15 and 30%) associated with supplement $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glycoside of plant origin did not have the productive and physiological results affected by treatments.

1. INTRODUÇÃO

A exploração comercial de codornas no Brasil vem crescendo, de forma significativa nos últimos anos. O efetivo de codornas foi de 20,34 milhões de cabeças em 2014, incremento de 12% no plantel, em relação ao registrado no ano anterior. Ainda, a produção de ovos foi 14,7% maior, sendo de 392,73 milhões de dúzias de ovos (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2014). São Paulo, Minas Gerais e o Espírito Santo são os estados com expressiva atividade coturnícola, sendo responsáveis por aproximadamente 77,0% da produção nacional (Pastore et al., 2012).

Dentre as espécies de codornas, a *Coturnix coturnix japonica* (codornas japonesas), utilizada para produção de ovos é a que mais se destaca. O seu uso comercial decorreu de inúmeros fatores, tais como a pequena exigência de espaço, rápido crescimento, maturidade sexual precoce, elevada eficiência produtiva, grande resistência a enfermidades, baixo investimento inicial à produção e rápido retorno do capital (Rosa et al., 2011).

No que se refere à produção de codornas japonesas, existem informações limitadas acerca das exigências nutricionais. Isso pode comprometer os custos com a alimentação ao se subestimar ou superestimar suas exigências, e ainda causar prejuízos ao setor. Assim, faz-se de importância conhecer o metabolismo desses animais, de modo a proporcionar uma nutrição de precisão, tendo como consequência melhorias no desempenho produtivo (Garcia et al., 2012).

O uso de programas alimentares balanceados tem por objetivo reduzir os custos, bem como minimizar os impactos ambientais advindos de resíduos da produção animal por meio do suprimento exato de nutrientes aos animais. Dentre tais nutrientes, têm-se as vitaminas, que são essenciais para o desenvolvimento animal, uma vez que participam como cofatores em reações metabólicas e permitem maior eficiência dos sistemas de síntese no organismo animal. A suplementação vitamínica representa 1,0 a 3,0% dos custos das rações (Rutz, 2008; Félix et al., 2009; Souza et al., 2013).

As aves apresentam capacidade limitada em sintetizar algumas vitaminas e a adição de complexos vitamínicos nas dietas pode possibilitar a melhora no desempenho. A vitamina D tem expressiva participação no metabolismo ósseo, sendo diretamente responsável pelo crescimento esquelético, que dá suporte às aves para obtenção do máximo desempenho produtivo (Brito et al., 2010). Essa vitamina também é essencial para manter a produção de ovos, formação da casca e a homeostase do cálcio (Salvador et al., 2009).

Especificamente para poedeiras, a obtenção de bons índices zootécnicos de desempenho e de qualidade dos ovos resulta em sucesso no setor produtivo de ovos comerciais. Estima-se que a incidência de ovos quebrados seja de 1%, em ovos produzidos por aves jovens, e de até 9,0% do montante de ovos produzidos por aves mais velhas, o que tem como consequência a desqualificação do ovo e em preços inferiores pagos aos produtores (Mazzuco & Bertechini, 2014). A perda de ovos por quebras e trincas, geralmente está diretamente ligada à qualidade da casca. Desse modo, várias pesquisas têm sido direcionadas para obtenção de melhoria da qualidade externa dos ovos (Carvalho & Fernandes, 2013).

Objetivou-se com a realização desta pesquisa, avaliar o desempenho zootécnico, a qualidade dos ovos, a biometria do aparelho digestório, as excretas, a composição orgânica e mineral dos ossos e o perfil bioquímico sérico de codornas japonesas em postura alimentadas com rações suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal associado ou não aos níveis de cálcio e fósforo disponível reduzidos.

2. JUSTIFICATIVA / RELEVÂNCIA

Na atualidade, as aves de produção são completamente diferentes dos seus homólogos antes da domesticação; crescem mais rápido, produzem mais (carne e ovos) e utilizam os nutrientes de forma mais eficiente, resultando em melhorias na conversão alimentar. Contudo, esses animais são criados, em sua grande maioria, em confinamento, com reduzida realização de exercícios físicos e exposição à luz solar (Adedokun & Adeola, 2013). Desse modo, faz-se de relevância o cuidado com a nutrição, que desempenha papel essencial na obtenção de bons índices produtivos e tecido ósseo de qualidade. Inúmeros nutrientes da dieta influenciam diretamente o crescimento, a manutenção óssea e a qualidade dos ovos, destacando-se o cálcio (Ca), o fósforo (P) e a vitamina D.

Os estudos na área de nutrição de codornas concentram-se em temas específicos, tais como as exigências nutricionais de proteína, energia e aminoácidos (Costa et al., 2010). Entretanto, ainda são limitadas as informações acerca de minerais e vitaminas, uma vez que são essenciais para o metabolismo normal e, para a saúde, manutenção, crescimento, produção e reprodução.

Diante da variação nos valores recomendados de Ca e P disponível (P_{disp}) para codornas japonesas em postura, bem como a falta de informações sobre o 1,25-

dihidroxicolecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) para as referidas aves, faz-se de relevância o presente estudo. Sabe-se que nos últimos anos, o uso de vitamina D_3 e seus metabólitos nas rações para aves, principalmente para frangos de corte, tem sido estudado (Souza & Vieites, 2014). Todavia, ainda são necessárias pesquisas para o estabelecimento dos níveis mínimos de tal vitamina e/ou metabólitos, bem como os níveis de Ca e P_{disp} , que poderão ser utilizados para as aves de postura (codornas), de modo a assegurar o adequado desenvolvimento animal. Ainda, torna-se imprescindível reduzir custos e possíveis impactos no meio ambiente (menor excreção de P), sem que haja o comprometimento do desempenho produtivo, bem-estar e saúde das aves.

As provas laboratoriais sanguíneas e ósseas podem servir como importante ferramenta para auxiliar no monitoramento da saúde, diagnóstico e tratamento de doenças. Há também grande preocupação no que se refere ao bem-estar animal, fazendo-se necessário o conhecimento de valores bioquímicos de referência, visando uma melhor avaliação do estado fisiológico das aves (Barbosa et al., 2011).

O presente estudo justifica-se pela busca no entendimento acerca da interação entre a nutrição e as variáveis produtivas e fisiológicas de codornas japonesas em postura suplementadas com $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ de origem vegetal, associado ou não aos níveis reduzidos de Ca e P_{disp} nas rações. A partir da realização de pesquisas, de âmbito semelhante ao proposto, as indústrias avícolas poderão decidir os programas alimentares mais adequados aos seus sistemas de criação, de modo que haja o atendimento das condições de mercado, das regulamentações ambientais e de bem-estar animal com os resultados melhores produtivos possíveis.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Vitamina D: funções e metabolismo

As vitaminas são micronutrientes essenciais para o metabolismo dos animais, e conseqüentemente necessárias para saúde e funções fisiológicas, tais como: manutenção, crescimento, produção e reprodução. A deficiência de uma ou mais vitaminas pode levar a distúrbios metabólicos, tendo como conseqüência a queda na produtividade e o desenvolvimento de doenças, enquanto que a suplementação de certas vitaminas tem efeitos positivos, principalmente quanto à imunidade (Félix et al., 2009; Rutz et al., 2014).

As vitaminas D são moléculas semelhantes aos esteroides, quando em sua forma ativa, funcionam como um hormônio, sendo encontradas principalmente sob duas formas: o ergocalciferol (D₂) e o colecalciferol (D₃). A vitamina D₂, sintetiza-se na pele (epiderme) a partir da exposição à luz solar – radiação ultravioleta (UV) no comprimento de onda de 290 a 315 nm, sobre o ergosterol vegetal e da membrana de fungos e invertebrados, enquanto que a vitamina D₃ independente da catálise enzimática, a partir do colesterol (Barral et al., 2007; Alves et al., 2013).

Segundo Castro (2011), a vitamina D₂ difere da D₃ não apenas pela origem, mas por apresentar um carbono a mais (28 unidades), um grupo metil extra e uma dupla ligação entre os carbonos 22 e 23 em sua estrutura. As formas D₂ e D₃ não são biologicamente ativas, sendo convertidas in vivo a forma ativa por duas reações de adição de grupos hidroxilas (OH) nas moléculas.

A vitamina D pode ser obtida pela alimentação ou ser produzida pelo organismo, desde que haja luz suficiente, 11 a 45 minutos/dia, para frangos de corte (Pizauro Júnior et al., 2002). Stanford (2006) relatou que os frangos alimentados com dietas deficientes em vitamina D₃ e expostos diariamente a radiação UVB por 30 minutos, apresentaram menor desenvolvimento de problemas esqueléticos quando comparados àqueles não expostos a referida radiação. Desse modo, em locais onde a radiação é reduzida, tal como ocorre em latitudes setentrionais e/ou sistemas de produção intensivos (confinamento), as aves devem receber suplementação de vitamina D via dieta.

As formas D₂ e D₃ apresentam atividades biológicas essencialmente idênticas, entretanto, as espécies aviárias utilizam mais eficientemente a vitamina D₃. Tal discriminação refere ao resultado da ligação reduzida dos metabólitos da vitamina D₂ às proteínas ligadoras da vitamina D no sangue, levando a depuração mais rápida dos metabólitos da D₂ no plasma (Bar, 2008; Souza & Vieites, 2014).

As transformações metabólicas importantes da vitamina D₃ encontram-se resumidas na **Figura 1**. A primeira etapa consiste na hidroxilação hepática, que ocorre no retículo endoplasmático, sendo catalisada pela 25-hidroxilase específica (CYP2R1), que é uma citocromo P₄₅₀-monoxigenase, que requer NADPH, oxigênio molecular e Mg²⁺, sendo o produto da reação o 25 hidroxicolecalciferol – 25(OH)D₃. Posteriormente, o 25(OH)D₃ circula no sangue ligado a uma proteína transportadora específica, α1-globulina (85-88%) e albumina (12-15%). No rim, o 25(OH)D₃ é metabolizado à principal forma biologicamente ativa da vitamina D₃, o calcitriol ou 1,25 dihidroxicolecalciferol – 1,25(OH)₂D₃, através de 1α-hidroxilação. A reação é efetuada pelo sistema 25 hidroxicolecalciferol-1α-hidroxilase (CYP27B1), localizado nas

mitocôndrias dos túbulos contornados proximais (Smith et al., 1988; Clinton, 2013; Bikle, 2014).

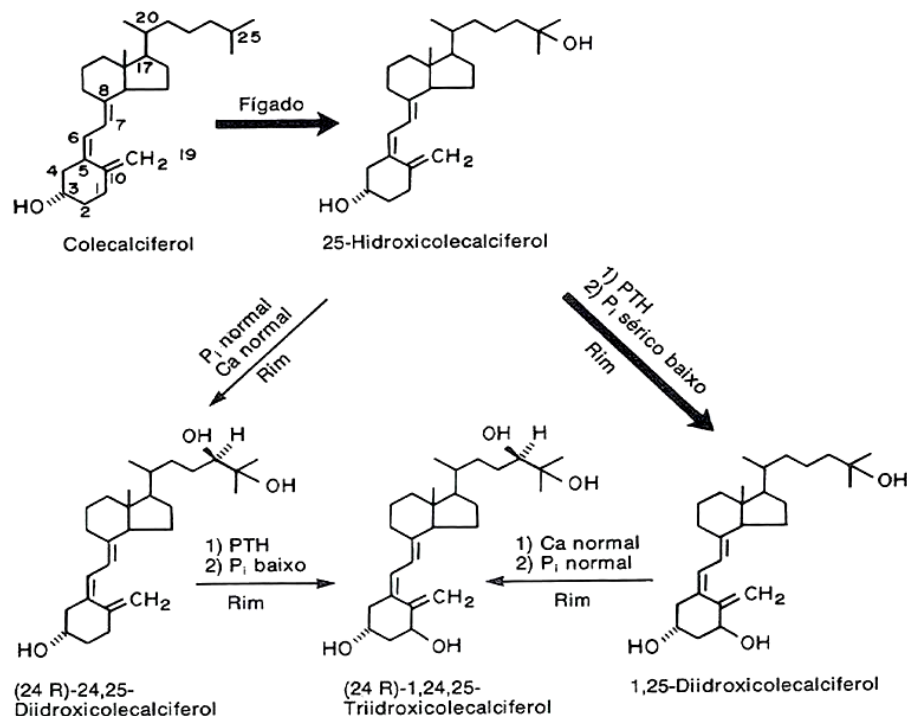


Figura 1. Reações metabólicas envolvendo a vitamina D₃ e seus locais de regulação. A via importante de síntese de 1,25(OH)₂D₃ é indicada por setas em negrito. PTH = paratormônio.

Fonte: Smith et al., 1988, p.402

Existem outras vias de hidroxilação no metabolismo da vitamina D₃: o 25(OH)D₃ pode ser convertido em 24,25 dihidroxicolecalciferol – 24,25(OH)D₃ por uma 24-hidroxilase (CYP24A1), encontrada primariamente nas mitocôndrias renais, que também pode converter o 1,25(OH)₂D₃, em 1,24,25 trihidroxicolecalciferol (Smith et al., 1988; Clinton, 2013). O 24,25(OH)D₃ consiste num metabólito biologicamente inativo, cuja concentração está inversamente relacionada ao nível de 1,25(OH)₂D₃, (Peixoto et al., 2012).

No que se refere à existência de hidroxilação extrarrenal da vitamina D, Dantas et al., (2009) e Marques et al., (2010) descreveram que a vitamina agiria de maneira autócrina/parácrina, com funções de inibição e proliferação celular, promoção de diferenciação celular e regulação imunológica. A regulação da 1 α -hidroxilase renal é

dependente da ingestão de Ca e P, bem como dos níveis circulantes de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e paratormônio (PTH).

De acordo com Inada Filho & Melamed (2013) elevados níveis de Ca em circulação e fator de crescimento de fibroblastos-23 (FGF-23) são capazes de suprimir diretamente a atividade da 1α -hidroxilase renal, através da regulação da transcrição do gene hidroxilase- α , e indiretamente através da supressão de PTH por mudanças mediadas por $3',5'$ -monofosfato cíclico (cAMP).

Dentre as funções do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ destaca-se a manutenção das concentrações adequadas de Ca e P, tanto séricos quanto extracelulares, para garantir uma variedade de funções metabólicas. Para isso, interage em diferentes órgãos, tais como suprarrenais, intestinos, rins e paratireóides. Além disso, o metabólito é responsável pela absorção intestinal de Ca e P, pela mobilização de Ca a partir do osso, na presença de PTH, e pelo aumento da absorção renal de Ca, regulando, assim, o metabolismo ósseo (Galvão et al., 2013).

A vitamina D_3 é absorvida no intestino, na presença de lipídios e sais biliares. Na ave, passa para a corrente sanguínea na forma de portomícrons, chegando ao fígado, para posteriores hidroxilações e formação de metabólitos (Rutz, 2008; et al., 2014). O $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ tem como principal receptor as células da mucosa intestinal, responsáveis pela absorção de Ca; e relaciona-se com a expressão de um RNA mensageiro específico e a subsequente síntese de proteína transportadora de Ca, calbindina – CaBP (Kusakawa & Faria, 1998).

Nas células endoteliais do intestino, o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ estimula a absorção ativa de Ca no duodeno e absorção passiva no jejuno. A absorção ativa é regulada pelo estímulo a expressão de proteínas responsáveis pela captação do Ca pelos enterócitos (TRPV5 e TRPV6), de CaBP e dos canais de membrana ATP-dependentes para extrusão do Ca para o fluido extracelular. No jejuno, esse metabólito estimula a expressão de paracelinas, proteínas intercelulares que formam canais por onde o Ca é transferido passivamente por gradiente de concentração (Castro, 2011).

As ações biológicas do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ desencadeiam-se a partir da conexão entre o metabólito e os receptores celulares específicos (VDR), predominantemente nucleares, com afinidade maior por esse metabólito, quando comparado ao $25(\text{OH})\text{D}_3$. Tais receptores são expressos em vários tipos de células, incluindo epitélio do intestino delgado e tubular renal, osteoblastos, osteoclastos, células hematopoiéticas, epidérmicas e pancreáticas, linfócitos, miócitos e neurônios (Dantas et al., 2009; Marques et al., 2010). Depois de formado este complexo, ocorre interação com o elemento de resposta

da vitamina D (VDRE) no DNA. Esta interação leva à transcrição dos genes e a síntese de RNAm para várias proteínas, como a osteocalcina e fosfatase alcalina nos osteoblastos e CaBP nas células intestinais (Grüdtner et al., 1997).

3.2 Vitamina D₃ e seus metabólitos na alimentação de aves de postura

Na atualidade, os metabólitos formados a partir da vitamina D₃ (25(OH)D₃ e 1,25(OH)₂D₃), encontram-se disponíveis comercialmente, para uso na alimentação animal. O propósito refere-se à disponibilização da vitamina numa forma mais ativa, de modo a reduzir os gastos energéticos, com a metabolização da vitamina, e tendo como consequência o aumento da eficiência no organismo (Garcia et al., 2013; Souza & Vieites, 2014).

A vitamina D₃ é a mais produzida industrialmente – forma sintética (Mojica et al., 2012); seguida pelos metabólitos inativos 25(OH)D₃ e 1 α -hidroxivitamina D₃ (1 α (OH)D₃). Existem alguns produtos à base de extratos herbais, que contém grande quantidade de vitamina D₃ em sua forma ativa. Os metabólitos hidroxilados da vitamina D₃ já foram identificados em várias plantas, tais como: *Cestrum diurnum* L., *Cucurbita pepo* L., *Medicago sativa* L., *Nicotiana glauca* Graham, *Trisetum flavescens* Beauv., e principalmente as pertencentes à família Solanaceae (Jäpelt & Jakobsen, 2013).

Dentre os metabólitos mais utilizados nas rações para aves tem-se o colecalciferol (D₃), o 25(OH)D₃ e o 1,25-(OH)₂D₃ (**Tabela 1**). De maneira geral, as bioatividades das formas de vitamina D seguem a sequência: 1,25(OH)₂D₃ > 25(OH)D₃ > D₃ > D₂ (Han et al., 2012). A absorção de D₃ é de aproximadamente de 70-75%, enquanto que a de 25(OH)D₃ é de 90% (Sepúlveda & Rosales, 2014). O 25(OH)D₃ refere-se a principal forma de armazenamento no organismo, com meia-vida de duas a três semanas aproximadamente, enquanto que a meia-vida do 1,25-(OH)₂D₃ é de quatro a seis horas (Castro, 2011).

Os níveis de vitaminas sugeridos nos diferentes relatórios de pesquisa, tais como: National Research Council – NRC (EUA), Fundación Española para el Desarrollo de La Nutrición Animal – FEDNA (Espanha) e Tabelas brasileiras de exigências nutricionais para aves e suínos (Brasil) são bases importantes para a estimativa dos valores a serem empregados para as diferentes aves, nas distintas fases de criação. Contudo, tais documentos apresentam apenas as exigências mínimas, as quais geralmente não são suficientes em condições de campo, uma vez que existe pouca correlação com os níveis empregados na prática (Félix et al., 2009).

Tabela 1. Principais características e tipos de vitamina D usados na alimentação animal

Tipo de vitamina D	Atividade / Solubilidade	Absorção / Transporte	Hidroxilação Hepática / Outras informações
D₃ Colecalciferol	Inativa. Lipossolúvel.	Depende de sais biliares e da formação micelar. Precisa ser transformada em 25(OH)D ₃ para ser transportada.	Necessária. Atende condições normais. Vantagem: preço menor.
25(OH)D₃ 25 hidroxivitamina D ₃ 25 hidroxicolecalciferol	Inativa. Hidrossolúvel	Independente.	Hidroxilada. Atende condições normais. Vantagem: metabólica - não sobrecarrega o fígado.
1,25(OH)₂D₃ 1,25 dihidroxivitamina D ₃ 1,25 dihidroxicolecalciferol	Ativa. Hidrossolúvel.	Independente.	Hidroxilada. Atende condições normais e específicas (melhor aproveitamento de Ca e P). Vantagem: metabólica - não sobrecarrega o fígado e os rins.

Fonte: Adaptação de Rambeck et al., (2015) e Lecznieski (2016)

As margens de segurança praticadas pelas indústrias na suplementação de vitaminas lipossolúveis excedem 5 a 10 vezes às reais necessidades das aves, decrescendo com a idade dos animais. As discrepâncias entre as instituições de pesquisa, quanto aos valores sugeridos das necessidades nutricionais de suplementação de vitamina D₃ em rações para aves (**Tabela 2**) decorrem de inúmeros fatores, tais como: desempenho, características ósseas, absorção e retenção de cálcio e fósforo, presença de luz ultravioleta, linhagem comercial, tipo de processamento das rações, fontes de vitaminas usadas, custos e condições das instalações (Nascimento et al., 2005).

Tabela 2. Níveis de suplementação de vitamina D₃ recomendados para poedeiras

Referência	Recomendação Vitamina D₃ (UI/μg)/kg de ração
NRC (1994)	750 – 900 UI (18,75 – 22,50 μg)
FEDNA (Lázaro et al., 2008)	2100 – 2900 UI (52,50 – 72,50 μg)
Guia de Suplementação Vitamínica (DSM, 2011) ¹	3000 – 4000 UI (75,00 – 100,00 μg)
Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos (Rostagno et al., 2011)	2000 UI (50,00 μg)

¹Recomendação para codornas.

Na Europa, o uso de aditivos vitamínicos nas rações é regulado pela Comissão Europeia – CE n°. 1831/2003. Até 2006, a suplementação de vitamina D era autorizada na forma de colecalciferol (D_3), sendo a partir desse ano também permitida a adição da forma $25(OH)D_3$ nas rações para frangos, perus e aves de postura. O novo regulamento (CE n°. 887/2009) estabeleceu o teor máximo da combinação de $25(OH)D_3$ e D_3 /kg de ração, sendo $\leq 0,125$ mg para frangos de corte (equivalente a 5000 UI da vitamina D_3) e $\leq 0,080$ mg (3200 UI) para outras aves (Mattila et al., 2011; Han et al., 2012).

De acordo com Souza & Vieites (2014), $25(OH)D_3$, $1\alpha 25(OH)D_3$ e $1,25(OH)_2D_3$ foram os mais estudados para frangos de corte, de modo que os valores recomendados não ultrapassaram 5.000 UI de vitamina D_3 /kg de ração. Todavia, no que se refere aos valores suplementares de cada metabólito da vitamina D_3 , das distintas fontes (sintética ou vegetal) a serem usados nas rações, para aves de postura, nas diferentes idades (fases de criação) não há consenso entre as pesquisas.

3.3 Uso de vitamina D_3 -glicosídeo de origem vegetal na avicultura

A *Solanum glaucophyllum* (SG) pertence a família Solanaceae, cujos sinônimos são: *Solanum glaucum*, *Solanum malacoxylon*, sendo popularmente conhecida como “espichadeira” no Brasil e “Duraznillo Blanco” na Argentina e Uruguai. A planta cresce em terrenos pantanosos e em áreas sazonalmente inundadas; apresentando 0,5 a 4,0 metros de altura, folhas simples e elípticas, flores roxo-azuladas de 2,0 cm de comprimento, e frutos na forma de baga globosa preto-azulada de 1,0 a 2,0 cm de diâmetro, **Figuras 2 e 3**.



Figura 2. *Solanum glaucophyllum* na região de Poconé, Mato Grosso, Brasil.
Fonte: Acervo Pessoal (junho/2010)



Figura 3. *Solanum glaucophyllum*.

Fonte: a) Espil & Spegazzini, 2012, p.13;

b) European Food Safety Authority – EFSA, 2015, p.07.

A SG cresce em diferentes regiões, desde a América do Sul, principalmente no Brasil e na Argentina até a Flórida (Rambeck et al., 2015), sendo considerada como um dos agentes da calcinose, no gado bovino no Brasil (Mello-Silva et al., 2006) e hipervitaminose D (Rosenberg et al., 2007). As calcinoses caracterizam-se por extensa mineralização de tecidos moles, representando a principal manifestação clínico-patológica da intoxicação direta ou indireta pela vitamina D (Peixoto et al., 2012).

O consumo de *Solanum malacoxylyon*, em quantidade elevada para bovinos, ovinos, coelhos, ratas, porquinhos-da-índia, frangos e codornas levou a aparição de uma condição conhecida como “enteque seco” (em espanhol) ou “espichamento”, caracterizada pela perda de peso dos animais e pontos de calcificação em diferentes órgãos (Trenchi et al., 1988-92). Os resultados observados decorreram da ação do princípio ativo na planta, o 1,25(OH)₂D₃-glicosídeo. A calcificação dos tecidos está relacionada à metaplasia de fibras elásticas e colágenas, transformando-as em osteoblastos, que por sua vez, produzem matriz extracelular modificada, promovendo a mineralização dos tecidos (Mello-Silva et al., 2006).

O experimento de Trenchi et al., (1988-92) avaliou o fornecimento de folhas secas de *Solanum malacoxylyon* – SM (0,0; 0,25 e 0,50%) para galinhas poedeiras (linhagem H & N), com 138 semanas, ou seja, com idade avançada. O lote que recebeu 0,50% de SM nas rações sofreu redução imediata e pronunciada da taxa de postura, desde a primeira semana até ser praticamente nula (4%). Ainda, o peso corporal das aves do referido lote diminuiu sete vezes, porém não houve aumento da calcemia.

A inclusão de SM influenciou as variáveis produtivas de frangos de corte de um a 21 dias de idade, de modo que o uso de 5,0 g da planta/kg de ração reduziu o ganho de peso e piorou a conversão alimentar, embora o consumo não tenha sido influenciado

(Vieites et al., 2015). Segundo os autores os resultados negativos podem ser decorrentes do aumento no gasto de energia para absorção e transporte do Ca, uma vez que o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ induz o aumento das concentrações séricas de Ca em seu órgão-alvo, o intestino, bem como de absorção do Ca por mecanismo ativo.

Em 2004, foi introduzido no mercado da Suíça e União Europeia, um produto fonte de vitamina D_3 ativa, proveniente de SG contendo 10 ppm de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ por quilo de produto. Essa forma apresenta-se mais estável para o armazenamento, é resistente a processos térmicos, sendo ainda mais tolerável pelos animais, quando comparado ao $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sintético. A vitamina D_3 ativa de origem vegetal é liberada lentamente no intestino, desse modo, picos acentuados do metabólito no sangue são evitados; uma vez absorvida, a vitamina mencionada comporta-se exatamente como o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ produzido no organismo animal (Mojica et al., 2012; Blanch & Olivé, 2014; European Food Safety Authority – EFSA, 2015).

A *Solanum glaucophyllum* apresenta 54,3% de carboidratos, 24,9% de proteínas, 17,1% de minerais e 4,1% de água (Bachmann et al., 2013) e glicosídeos de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ – 8,6 a 100 $\mu\text{g/g}$ de folhas secas. Entretanto, tal quantidade dependerá das condições ambientais em que a planta foi cultivada, bem como de sua genética. A distribuição molecular dos radicais glicosilados na *Solanum* é de uma a 12 unidades de hexoses por aglicona (EFSA, 2015), **Figura 4**.

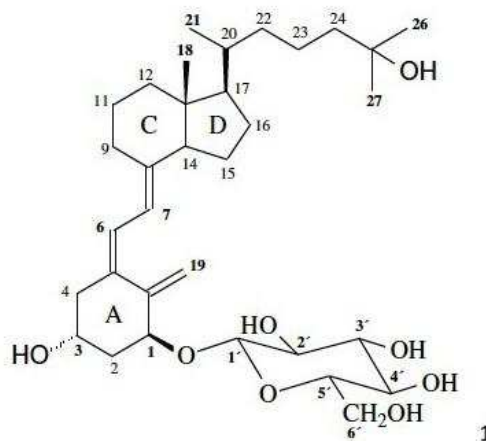


Figura 4. Representação da estrutura do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glicosídeo proveniente de *Solanum glaucophyllum*
Fonte: Bachmann, 2013a, p.647.

O excesso do glicosídeo esteroidal contendo a molécula de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ no organismo, por via exógena, produz aumento da concentração da proteína de ligação com o Ca, sendo absorvidos mais íons Ca e P, promovendo hipercalcemia e hiperfosforemia (Mello-Silva et al., 2006).

Fuller et al., (2005) avaliaram o Ca (2,5; 3,0 e 3,5%) e o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (0,0; 5,0 e 10 g de folhas secas de SG/kg de ração) para poedeiras Leghorn White, no segundo ciclo de produção (70 a 90 semanas de idade). O fornecimento de SG não apresentou efeito sob a produção de ovos, entretanto, aumentou a resistência da casca e a gravidade específica dos ovos.

Deniz et al., (2013) estudaram o fornecimento suplementar de vitamina D_3 ativa de origem vegetal (10 ppm $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ /kg de ração) para matrizes de corte Lohmann LB, de 38 a 48 semanas de idade. Os pesquisadores observaram melhora significativa na qualidade da casca dos ovos na 40^a. e na 48^a. semana e na resistência da casca dos ovos (42^a. semana) no grupo de aves alimentado com o metabólito da vitamina D_3 . Os autores sugeriram que a suplementação com $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pode ser eficaz para matrizes em idade avançada, que apresentam metabolismo irregular da vitamina D.

Ao avaliarem a adição de SG para frangos de corte aos 14 dias de idade, Bachmann et al., (2013a) verificaram que os grupos tratados com extratos herbais contendo 37,8 μg de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ apresentaram concentração de Ca plasmático ligeiramente elevada ($p < 0,05$), peso corporal mais baixo e sinais de hipervitaminose D marginal. Contudo, as quantidades do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ no plasma se mantiveram na faixa de normalidade ($\bar{x} = 46,6 \text{ pmol/mL}$). Os pesquisadores recomendaram como uso seguro e eficaz até 1,0 g de folhas secas de SG/kg de ração, perfazendo 10 μg de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ para essas aves.

O EFSA (2015) descreveu estudo com 2.700 galinhas poedeiras (Lohmann) com 53 semanas de idade, alimentadas com dietas basais contendo 75 μg de vitamina D_3 , suplementadas com 0,0; 2,0; 5,0 e 20 μg de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glicosídeo de origem vegetal. As variáveis de desempenho produtivo (consumo de ração, conversão alimentar/massa de ovos, mortalidade) e de qualidade da casca do ovo (força de ruptura) não foram influenciadas pelos tratamentos.

Especificamente para codornas japonesas, Bachmann et al., (2013a) mostraram que as aves alimentadas com extratos de SG, anteciparam a postura em 1-2 dias quando comparadas as aves alimentadas com colecalciferol (D_3). O acontecimento foi explicado como sendo decorrente do maior tempo necessário para realização dos dois passos enzimáticos na transformação endógena da D_3 em $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Ainda, os autores relataram que aparentemente as codornas toleram até 70,4 μg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glicosídeo de origem vegetal (valores normais de peso da casca, bem como de fosfatase alcalina, Ca e $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ séricos), sendo a justificativa para esse comportamento, pautada em duas hipóteses:

1) Biodisponibilidade inferior do 1,25(OH)₂D₃ glicosilado, sendo essa de aproximadamente de 15%. Com base nos resultados avaliativos das cascas dos ovos das codornas, os autores estimaram que 1,25(OH)₂D₃ sintético é 5 vezes mais ativo que a D₃; o 1,25(OH)₂D₃-glicosídeo no extrato de SG purificado foi 1,7 vezes menos ativo do que a D₃ e aproximadamente 7 vezes menos que a forma sintética.

2) Liberação e depuração retardada do metabólito no organismo da ave. A absorção diferenciada do metabólito e a característica da clivagem do glicosídeo pelas enzimas intestinais ubíquas antes da absorção (Mathis et al., 2014), que modificam a reabsorção do metabólito livre, a fim de reduzir os picos elevados no sangue, entretanto, tal efeito pró-fármaco é difícil de comprovar.

Londowski et al., (1986) demonstraram que ratos que receberam 1,25(OH)₂D₃-glicosídeo via parenteral clivaram o metabólito na circulação sanguínea. Bachmann et al., (2013) compararam as propriedades farmacocinéticas do 1,25(OH)₂D₃ sintético e do glicosilado (proveniente da SG), em ratos machos. O metabólito glicosilado apresentou padrão de liberação no organismo modificada, de modo que a absorção e a eliminação foram retardadas quando comparado ao sintético. Segundo os pesquisadores, a depuração mais rápida da forma sintética do 1,25(OH)₂D₃ pode ser explicada pela downregulation da 1 α -hidroxilase ou upregulation da atividade da 24-hidroxilase. Segundo Smith et al., 1988, a atividade da 24-hidroxilase apresenta-se aumentada quando a atividade da 1 α -hidroxilase está reduzida – Ca²⁺ e P_i normais.

De acordo com Zimmerman et al., (2015) o 1,25(OH)₂D₃-glicosídeo passa por clivagem pelas glicosidases ou por modificações no Anel-A, exigindo-se assim populações bacterianas com as enzimas, que por sua vez, podem estar presentes em diferentes quantidades e segmentos do intestino, e somente após esse processo acontecer, haverá a liberação do metabólito no organismo. Outro fato descrito pelos autores citados é que a forma glicolisada do metabólito da vitamina D₃ aparentemente resiste ao processo de clivagem no íleo, sendo liberada somente no cólon.

3.4 Cálcio (Ca) e fósforo (P) na nutrição de codornas japonesas

Os minerais representam de 3 a 4% do peso vivo das aves, estando envolvidos em várias vias metabólicas, exercendo funções importantes no crescimento e reprodução. Tais funções fisiológicas não se limitam apenas na manutenção da vida, mas também no aumento da produtividade do animal (Pinto et al., 2012). O Ca e o P são

os que apresentam maiores exigências dietéticas e também os que afetam principalmente o desempenho das aves.

O Ca é o mineral mais abundante no organismo animal, sua maior parte (99%) encontra-se na forma de hidroxiapatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], na proporção de 2:1 com o P. Além desta participação na estrutura óssea, o Ca distribuído em tecidos moles (1%), exercendo funções variadas, tais como ativador de enzimas, transmissão de estímulos nervosos e no processo de coagulação sanguínea (Adedokun & Adeola, 2013; Bertechini, 2014).

A utilização do Ca pelo organismo depende principalmente da idade da ave (Nunes et al., 2006). Durante o período de crescimento da ave de postura, a maior proporção do Ca dietético é utilizado para formação dos ossos, enquanto que na fase adulta, para a produção de ovos, direciona-se para a formação da casca do ovo (Vargas Jr. et al., 2004). O Ca^{2+} para formação da casca proveniente da reabsorção óssea e absorção intestinal é transportado através do sangue até a luz da câmara calcígena. Transporte este mediado pela atividade da anidrase carbônica, enzima chave na formação da casca de ovos (Carvalho & Fernandes, 2013).

Segundo Mello (2015) para a formação da casca do ovo, aproximadamente 30% do Ca é proveniente dos ossos, e isto acontece pelo fato de que no útero, aonde ocorre a deposição do carbonato de Ca no ovo, não há estocagem de Ca, ou seja, a fração orgânica da casca é sintetizada por glândulas e o Ca mobilizado do sangue e essa transferência do plasma para o útero é muito rápida.

Os sintomas de deficiência de Ca em aves em desenvolvimento incluem atraso no crescimento, diminuição no consumo de alimento, fragilidade óssea, e em aves adultas, presença de ovos com casca fina, redução na produção de ovos e no conteúdo de cinzas e de Ca nos ossos (Garcia & Pizzolante, 2004).

O P está associado tanto ao nível de absorção como ao metabolismo de Ca, sendo que mais de 80% desse elemento associa-se ao Ca na formação óssea, e o restante está nos tecidos moles. Dentre as funções exercidas pelo P, têm-se a participação nos ossos (hidroxiapatita), nas membranas celulares na forma de fosfolipídios (lecitina), como fosfato nas moléculas de ácido desoxirribonucleico (DNA) e ribonucleico (RNA) e nas formas de energia potencial, tais como adenosina difosfato e trifosfato – ADP e ATP, respectivamente (DiBartola, 2007; Adedokun & Adeola, 2013; Nie et al., 2013).

O esqueleto é o reservatório de Ca e P do organismo e nas poedeiras essa função é particularmente importante, uma vez que a casca do ovo contém aproximadamente 10% do Ca corporal total da ave. Assim, há alta demanda de Ca para manter a

homeostase sanguínea, concomitantemente a formação da casca (Bar, 2008; Mazzuco, 2011). Mecanismos fisiológicos controlam a integridade do esqueleto em resposta às diferentes necessidades da vida produtiva da ave de postura. A importância relativa do intestino e ossos como fontes de Ca dependem da concentração de Ca da dieta (Mazzuco, 2005).

De maneira geral, existe uma barreira intestinal, tais como pH e viscosidade intestinal, que dificulta a absorção da maioria dos minerais. Assim, os níveis dietéticos normalmente se apresentam além das necessidades reais, resultando na menor taxa de aproveitamento e conseqüente poluição do meio ambiente pelo excesso de excreção (Bertechini, 2012).

Para garantir a qualidade da casca do ovo, os níveis de Ca e P devem ser adequados, atendendo as exigências nutricionais das aves. Cabe salientar que a exigência nutricional das codornas pode ser alterada em função do tipo de ave (codorna japonesa ou europeia), sexo, idade e objetivo do criatório – produção de ovos para consumo ou para incubação ou produção de carne (Albino & Barreto, 2003).

Nos últimos anos, as codornas ficaram mais pesadas e produtivas, e em razão dessas mudanças, ainda não há padronização de linhagens comerciais, o que tem contribuído para a variação dos resultados de desempenho (Rostagno et al., 2011). O National Research Council – NRC (Washington-EUA, 1994) preconizou 2,5% de Ca e 0,35% de P disponível (P_{disp}) nas rações para codornas japonesas na fase de postura. Rodrigues et al., (2013) evidenciaram que exigências estabelecidas em certos países temperados e principalmente as recomendadas pelo NRC (1994), foram muito utilizadas no passado, contudo, na atualidade, não podem ser aplicáveis com segurança em países tropicais.

No Brasil, o empenho dos pesquisadores em estabelecer níveis nutricionais adequados para as codornas japonesas, resultou na elaboração de dois relatórios: Silva & Costa (2009) e Rostagno et al., (2011). As exigências nutricionais de Ca e P_{disp} apresentadas por Rostagno et al., (2011) para codornas japonesas em postura foram 3,099 e 0,323; 2,922 e 0,304; e 2,909% e 0,303% para aves com peso corporal de 0,165, 0,177 e 0,189 kg, respectivamente.

Inúmeras pesquisas estão sendo realizadas, com o intuito de estabelecer informações acuradas acerca das necessidades nutricionais das codornas japonesas, de modo que seja possível a expressão do máximo desempenho produtivo associado à higidez. Na **Tabela 3** estão apresentados os valores de Ca e P_{disp} preconizados por diferentes autores para codornas japonesas em postura.

Tabela 3. Recomendações percentuais de Ca e P_{disp} para codornas japonesas em postura em diferentes estudos

Autores	Cálcio (%)	Fósforo disponível (%)	Idade
Pedroso et al. (1999) ¹	3,50	0,45	6-16 semanas
Masukawa et al. (2001) ¹	2,00 - 3,05	-	6-29 semanas
Barreto et al. (2007) ¹	3,20	-	8-12 semanas
Brandão et al. (2007) ¹	3,51	-	6-19 semanas
Costa et al. (2007) ¹	2,50	0,31	8-21 semanas
Costa et al. (2010) ¹	3,50	0,15	45-57 semanas
Costa et al. (2010a) ¹	3,80	-	45-57 semanas
Costa et al. (2011) ¹	-	0,15	45-57 semanas
Silva (2011) ¹	2,50	0,25	7-54 semanas
Amoah et al. (2012) ²	2,50	0,35	12-42 semanas
Sbano (2012) ¹	2,80	-	9-18 semanas
Silva et al. (2012) ¹	2,92 - 3,50	0,35 - 0,40	-
Vieira et al. (2012) ¹	2,00	0,31	26-38 semanas
Nascimento (2013) ¹	3,099	0,323	21-36 semanas
Aguda et al. (2015) ³	2,50	0,35	7-20 semanas

¹Estudos realizados no Brasil (América do Sul); ²Estudo realizado na Nigéria (África); ³Estudo realizado em Nueva Ecija, República das Filipinas (Ásia).

Rodrigues et al., (2013) compilaram dados acerca das exigências nutricionais de Ca e P_{disp}, **Tabela 4**, entretanto, os valores apontados para P_{disp} foram maiores que os recomendados por Costa et al., (2010, 2011), Silva (2011) e Nascimento (2013). O percentual de Ca também foi superior aos sugeridos por Silva (2011), Amoah et al., (2012), Vieira et al., (2012) e Aguda et al., (2015).

Tabela 4. Exigências nutricionais para codornas japonesas em postura

	Postura 1	Postura 2
Cálcio (%)	2,80-3,60	2,80-3,20
Fósforo disponível (%)	0,35	0,27-0,43

Fonte: Rodrigues et al., 2013, p.77.

As diferenças nas recomendações de Ca e P_{disp} para codornas japonesas decorrem de inúmeras razões, tais como: a fonte e a disponibilidade biológica dos minerais (Araújo et al., 2008), a idade das aves (Vargas et al., 2003), a capacidade absorptiva (Barreto et al., 2007; Murata et al., 2009; Lima, 2011) e o nível de energia nas dietas (Costa et al., 2010a).

Applegate & Angel (2014) relataram que o fornecimento excessivo de P dietético em criações comerciais é comum, com valores superiores em 20 a 100%, além dos requisitos das aves. Dentre as principais razões para tal extrapolação têm-se a falta de informações acerca do P_{disp} nos ingredientes, bem como a variabilidade desses ingredientes.

O requerimento é maior em aves jovens, quando a taxa de crescimento é alta, e diminui em adultas, quando o peso corporal é alcançado (Vargas Jr. et al., 2003). Ao alcançarem o trato gastrointestinal, os minerais devem ser inicialmente solubilizados para liberarem íons e serem absorvidos. No entanto, estando na forma iônica, os minerais podem se complexar com outros componentes da dieta, dificultando a absorção ou tornando-os indisponíveis aos animais. Assim, os níveis de minerais fornecidos nas dietas são frequentemente superiores aos mínimos exigidos para otimizar o desempenho, resultando em excesso de fornecimento (Araujo et al., 2008).

As aves jovens têm maior capacidade de absorver Ca, sendo o valor de retenção de 60%, enquanto que nas aves mais velhas, a capacidade absorptiva aproxima-se de 40% (Barreto et al., 2007; Murata et al., 2009). Quanto ao P, a referida capacidade é progressiva, na medida em que avança a idade, aumenta-se a absorção (Lima, 2011).

Lima (2011) descreveu a maior parte dos estudos avaliando minerais para codornas, baseiam-se no método empírico (dose-resposta), que determina a exigência através dos níveis de ingestão de um único nutriente. Devido a isto, os resultados ficam restritos às condições experimentais em que os animais foram submetidos, ocasionando discrepâncias de estimativas.

No que se refere às relações cálcio:fósforo nas rações de baixa e alta proteína bruta, para codornas na fase de produção de ovos, essas são 8,4:1 e 8:1, respectivamente (Silva et al., 2012). Tais relações são maiores que a citada pelo NRC (1994), de 7:1, que por sua vez, assemelha-se a preconizada por Lázaro et al., (2005) para matrizes de codornas japonesas, de 7,7:1. Todavia, são menores quando comparadas as de poedeiras leves, de 13,4:1 (Rostagno et al., 2011).

3.5 Ca e P e o desempenho produtivo e as características ósseas de codornas japonesas

O ovo da codorna japonesa pesa aproximadamente 12 g, e a casca representa em média 8% de seu peso total, ou seja, equivale a 0,96 g. Se 30% do peso da casca é devido ao teor de Ca nela contido, necessita-se 0,288 g de cálcio para a formação da

casca de um ovo por dia. Ao considerar que o referido ovo tem em sua composição nutricional, 8,7 mg de Ca e 30,7 mg de P, a relação P:Ca equivale a 3,5:1, assim faz-se necessário um teor total de 0,297 g de Ca para produção de um único ovo (Costa et al., 2010).

No início da vida produtiva a ave de postura tem balanço negativo de Ca, dessa forma, torna-se crucial a adequada reserva de cálcio ósseo nessa fase, para a produção e qualidade da casca do ovo. O aumento de Ca nas dietas pré-postura pode aumentar o conteúdo desse mineral nos ossos até a ave alcançar a maturidade sexual, uma vez que a redução do Ca ocasionaria diminuição do hormônio folículo estimulante, tendo como consequência menor produção de ovos (Keshavarz, 1987; Vargas Jr. et al., 2004; Rodrigues et al., 2005).

Brandão et al., (2007) estudaram sete níveis de Ca (2,95 a 3,85%) nas dietas de codornas japonesas de 6 a 19 semanas de idade. Os pesquisadores observaram efeito quadrático dos níveis de Ca sobre a conversão por dúzia de ovos, massa e produção de ovos, sendo os valores máximos estimados para essas variáveis de 3,34, 3,51 e 3,45% de Ca, respectivamente. O consumo de ração e a conversão por massa de ovos não foram influenciados, e a recomendação dada foi de uso de 3,51% de Ca dietético.

No experimento de Pizzolante et al., (2007), o escalonamento da oferta de Ca dietético (5,0% no total) não alterou o consumo de ração e a conversão alimentar de codornas japonesas com 54 semanas de idade. De modo similar, Pedroso et al., (1999) relataram que a combinação entre diferentes quantidades de Ca (2,5; 3,0 e 3,5%) e de P (0,25; 0,45; 0,65 e 0,85%) nas rações para codornas japonesas de 6 a 16 semanas de idade, não proporcionou resultados significativos para percentual de postura, consumo de ração, conversão alimentar e peso dos ovos.

Quanto à qualidade de ovos, Costa et al., (2007) encontraram que níveis de P_{disp} (0,15; 0,25; 0,35; 0,45 e 0,55%) influenciaram de forma quadrática a altura e o diâmetro médio dos ovos de codornas japonesas durante a fase inicial da postura e o Ca (2,5 e 3,2%) na casca e percentagens de Ca e P nos ossos. A porcentagem e o peso de gema reduziram até os níveis 0,40 e 0,25% de P_{disp} , respectivamente.

Embora seja observada melhoria nos ovos comercializáveis com o aumento dos valores de P_{disp} nas dietas, tais valores influenciam de forma negativa a qualidade da casca e a gravidade específica, que por sua vez podem ser melhoradas com níveis adequados de Ca. Assim, evidencia-se a importância do Ca para melhor qualidade dos ovos quando comparado ao P (Costa et al., 2010b, Vieira et al., 2012). Ainda, quantidades abaixo das recomendações de P podem promover uma maior abertura dos

poros da casca dos ovos ou um aumento do número deles, contribuindo para uma pior qualidade da casca, uma vez que esses possibilitam maior perda de CO₂ para o meio, influenciando o pH interno do ovo, comprometendo a manutenção da qualidade (Costa et al., 2010b).

As codornas são tolerantes às variações de Ca na dieta, sendo o que metabolismo dessas aves, permite adequar o nível de Ca necessário a produção de ovos e excretar o excesso desse mineral (Masukawa et al., 2001). Fisiologicamente, quando o Ca é fornecido em níveis baixos na dieta, há maior produção de proteínas envolvidas no transporte intracelular de Ca (CaBP), aumentando a eficiência de absorção e melhorando o aproveitamento desse mineral (Costa et al., 2010).

Raju et al., (1992) citados por Costa (2006) testaram níveis de Ca (2,0; 2,5; 3,0 e 3,5%) e de P (0,35; 0,50 e 0,65%) nas dietas de codornas de postura, e observaram que a produção de ovos, o peso corporal, o peso do ovo e a espessura da casca foram influenciados significativamente pela concentração de Ca. O peso do ovo reduziu com 0,65% de P, e a concentração sérica de Ca e o percentual de cinzas ósseas não foram alteradas pelos níveis dietéticos de Ca, todavia, a concentração de Ca no sangue, declinou com o aumento de P nas rações.

Vieira et al., (2012) avaliaram Ca (2,0; 2,5 e 3,0%) e P_{disp} (0,10; 0,17; 0,24 e 0,31%) para codornas japonesas em postura de 26 a 38 semanas de idade. Os autores verificaram interação significativa entre os níveis de Ca e P para o teor de cinzas nas tíbias. De modo que, uma menor quantidade de cinzas foi obtida nos ossos das aves que receberam 0,14% de P_{disp} e 2,5% de Ca, enquanto que no fornecimento de 3,0% de Ca houve aumento em 6,8% na referida quantidade, quando comparada àquelas obtidas nas dietas com menor e maior nível de P_{disp}.

O tecido ósseo e as excretas de codornas japonesas no terço final de postura (45 a 57 semanas de idade) alimentadas com 3,0% de Ca e diferentes valores de P_{disp} (0,15; 0,25; 0,35; 0,45 e 0,55%) foram estudados por Costa et al., (2011). Os resultados dos teores de cinzas nas excretas e P nas tíbias apresentaram efeito quadrático, com ponto de máxima deposição em 0,30% de P_{disp}, e 0,42% de P_{disp}, respectivamente. Ainda, ao aumentar o P_{disp} dietético houve maior retenção de magnésio e de Ca nos ossos, todavia, a relação Ca:P manteve-se entre 2,4 e 2,5:1, comprovando a capacidade dessas aves em regular a homeostase óssea, dos minerais de Ca e P, por meio da atuação dos hormônios calcitonina e PTH e da vitamina D₃.

Costa et al., (2010) avaliaram Ca (2,0; 2,5; 3,0 e 3,5%) e P_{disp} (0,15 e 0,35%) para codornas japonesas no terço final de postura. Os pesquisadores não verificaram

interação significativa entre os níveis dos minerais. Observou-se aumento no teor de P excretado mediante o aumento de P_{disp} nas rações e a conclusão de que 3,5% de Ca e 0,15% de P_{disp} foram suficientes para proporcionar bom desempenho produtivo e manutenção satisfatória da qualidade dos ovos das aves.

O excesso de P adicionado às rações é eliminado nas excretas das aves, causando sérios problemas ao meio ambiente, tais como a eutrofização e nitrificação, que provocam diminuição da quantidade de oxigênio existente nas águas dos rios, lagos e subterrâneas, além de contaminarem o solo (Fukayama et al., 2008; Macedo & Sipaúba-Tavares, 2010; Delezie et al., 2015). Além do exposto, o P é considerado o terceiro nutriente mais caro em rações para monogástricos, ficando atrás somente das fontes de energia e proteína (Pinheiro et al., 2015). Desse modo, inúmeras pesquisas estão sendo conduzidas objetivando a determinação da quantidade mínima do referido elemento que pode ser usada, em níveis seguros, ou seja, sem o comprometimento das atividades fisiológicas e produtivas das aves. Algumas estratégias já estão sendo colocadas em prática, tais como uso suplementar de enzima exógena (fitase) em dietas marginalmente deficientes em minerais; formulação de rações com base no Ca e P digerível.

3.5.1 Absorção do Ca e do P em aves de postura

As concentrações plasmáticas de Ca e P são controladas dentro de uma estreita margem de variação, tanto dentro quanto fora da célula, através de rigorosos mecanismos interativos entre PTH, calcitonina (CT), estrogênio e $1,25(OH)_2D_3$ e seus respectivos receptores localizados no intestino, ossos e rins (Rutz et al., 2007; Proszkowiec-Weglarz & Angel, 2013).

Com baixos níveis de Ca^{2+} no sangue, células da paratireóide rapidamente liberam o PTH, que por sua vez, atua aumentando a reabsorção óssea, liberando Ca^{2+} a partir da matriz óssea para a circulação, e ainda promovendo reabsorção renal. As ações descritas tendem a restaurar a concentração sérica de Ca^{2+} . Em situações crônicas, o PTH aumenta a produção de $1,25(OH)_2D_3$ para melhorar a absorção intestinal de Ca^{2+} (Chang et al., 2013).

Estudos sugerem que o PTH aumenta o transporte transepitelial de Ca^{2+} e que as proteínas quinases A e C participam desse processo. Ainda, o PTH estimula a adenilato ciclase renal e então ativa a enzima 1- α -hidroxilase, promovendo aumento na concentração de $1,25(OH)_2D_3$. Os receptores sensíveis ao Ca^{2+} (CaRS) acoplados à

proteína G, localizados nas membranas das células paratireoides captam alterações nas concentrações de Ca^{2+} e sinalizam para obter respostas nestas células, ou seja, o Ca atua modulando a resposta celular através de uma proteína G. Altas alterações de Ca^{2+} extracelular sustentam um aumento de Ca^{2+} intracelular ou redução de cAMP, os quais, inibem a secreção de PTH (Hoenderop et al., 2005; Chang et al., 2013; Silva, 2014).

A absorção do Ca ocorre em dois pontos diferentes: 1) pela membrana dos enterócitos com ajuda da vitamina D e uma proteína transportadora (calbindina) e 2) pelo espaço intercelular do epitélio intestinal com o auxílio do PTH (Pinto et al., 2012). A absorção do Ca ao longo do intestino acontece principalmente no duodeno e jejuno; tal processo pode ser tanto por difusão quanto pelo processo ativo. Dentre os fatores que interferem na absorção, encontram-se o seu nível na dieta.

Há outros mecanismos que estimulam a rápida absorção de Ca, presumivelmente através de mecanismos não genômicos, possivelmente por modificação direta dos fosfolipídios das membranas dos enterócitos, com fluxo de íons de Ca via trans e intracelular (Guadarrama, 2001).

De acordo com Maiorka & Macari (2008), aves submetidas a dietas com altos níveis de Ca, tem menor taxa de absorção desse mineral quando comparadas àquelas alimentadas com níveis de Ca mais baixos, devido a uma provável saturação da proteína transportadora de Ca da membrana (PTCa). Ainda, o excesso de Ca tem um efeito neutralizante no intestino, causando elevação do pH, redução de formação de fosfato de cálcio insolúvel no trato digestório e prejuízos às funções metabólicas (Aguda et al., 2015). Alterações na relação Ca:P, bem como o estado nutricional da ave podem afetar a absorção de Ca. Quanto mais velha a ave, menor a capacidade de absorção.

A absorção de Ca^{2+} em aves de postura está relacionada com o estado fisiológico do animal. Poedeiras afetadas por alterações no equilíbrio ácido-básico, como quando expostas a altas temperaturas, podem produzir ovos com casca mais fina, pois o metabolismo do Ca altera durante o processo de formação de casca. Tal fato ocorre porque a alcalose afeta a concentração de Ca sanguíneo. A câmara calcígena das aves remove o Ca ionizado (difusível) do sangue para formar a casca, e esse pode ser rapidamente resposto pela dissociação do Ca ligado a proteína – Ca não difusível. Porém, durante o estresse por calor, há um aumento no pH, devido à perda de dióxido de carbono (CO_2), sendo esse aumento acompanhado por diminuição no nível sanguíneo de Ca difusível (Murakami & Garcia, 2014). Essa situação é indesejável, principalmente, em sistema de produção de ovos, uma vez que está diretamente relacionada com a piora na qualidade de casca dos ovos (Pastore et al., 2014).

A homeostase do P_i é determinada pela absorção intestinal de P dietético, reabsorção renal e excreção, bem como pelo armazenamento extracelular e ósseo. A absorção de P ocorre no intestino delgado, sendo o duodeno o principal local absorptivo. O processo é estimulado pelo $1,25(OH)_2D_3$, tal qual o Ca^{2+} , sendo 60 a 70% do PO_4^{3-} dietético absorvidos pelo transporte ativo. O transportador do fósforo (P_i) é sódio-dependente (NaPi-IIb), regulado pela vitamina D_3 e pelas concentrações de P_i no lúmen intestinal, uma vez que a presença de íons (ferro, magnésio, alumínio e Ca) reduz a disponibilidade de P (Maiorka & Macari, 2008; Adedokun & Adeola, 2013; Nie et al., 2013).

A excreção de Ca e P ocorre por dois processos: 1) relacionada ao material que não foi absorvido; e 2) por via urinária, onde há controle hormonal na excreção renal. Este controle de excreção é altamente correlacionado com as quantidades séricas de Ca e P, refletindo o estado fisiológico do animal num determinado momento. Desse modo, a excreção influencia-se diretamente pela absorção e utilização desses minerais pelo animal. O PTH também atua por meio dos receptores sensíveis ao cálcio, reduzindo de forma direta a excreção de Ca via urina e, indiretamente (ação da vitamina D) via excretas. Ao mesmo tempo, o PTH aumenta a excreção de P, devido sua ação sobre os ossos liberando íons fosfato na circulação (Costa, 2009; Almeida, 2011; Silva, 2014). Os ossos são grandes depósitos para suprir a necessidade circulante destes elementos químicos, sofrendo constante remodelagem e renovação (Pizauro Júnior, 2008).

3.6 Algumas considerações do Ca, P e $1,25(OH)_2D_3$ na fisiologia óssea e sanguínea

Sepúlveda & Rosales (2014) evidenciaram que as biomoléculas da vitamina D_3 atuam eficientemente no metabolismo ósseo de aves (deposição de minerais), permitindo inclusive a redução dos níveis dietéticos de Ca e P. Entretanto, ainda são escassas as informações sobre o funcionamento dos diferentes metabólitos para aves de postura, que são animais susceptíveis ao acometimento de osteoporose, “fadiga de gaiola” e fragilidade da casca do ovo no fim do ciclo produtivo.

A osteoporose em poedeiras pode ser definida como decréscimo progressivo na quantidade de osso estrutural mineralizado, levando a uma fragilidade e susceptibilidade a fraturas. A etiologia da doença é multifatorial, com elementos de origem nutricional, ambiental (manejo e instalações), genéticos e fisiológicos – envelhecimento (Mazzuco, 2005). Ainda, a osteoporose resulta em má qualidade óssea, sendo inicialmente foi descrita como sendo “fadiga de gaiola”, caracterizada por ossos quebradiços, paralisia e

morte. A fadiga ocorre em consequência da perda estrutural dos ossos nas vértebras, que levam a um colapso vertebral e paralisia. A osteoporose não é tão severa a ponto de levar a fadiga de gaiola, porém, a perda estrutural óssea pode levar a alta incidência de fraturas em vários locais ao longo do esqueleto (Rutz et al., 2013).

Segundo Mazzuco (2005) os baixos valores de massa óssea e o aumento no risco às fraturas são característicos em ossos de aves no final do ciclo produtivo e são consequências de mudanças na estrutura do colágeno e diminuição de mineralização. A perda da integridade óssea associada à idade, ocorre devido à redução na produção de osteoblastos, células responsáveis pela deposição de matriz óssea e, também em função da perda de capacidade de absorção de vitamina D no intestino e ossos. Ainda, com o envelhecimento, os hormônios críticos a reprodução como estrógeno e seus receptores declinam, o que resulta na menor habilidade em absorver o Ca, no trato gastrointestinal ou túbulos renais e, da redução na transferência do Ca ao útero para formação da casca do ovo.

O esqueleto das aves domésticas é composto por três diferentes tipos de ossos, sendo que dois (cortical e trabecular) que se desenvolvem durante o período de crescimento; e um (medular) que se forma a partir da maturidade sexual. O osso cortical compacto, encontrado na diáfise de ossos longos, cuja fração trabecular localiza-se nas vértebras e epífise de ossos longos. Embora o osso medular não ofereça sustentação mecânica, ele atua como uma reserva de Ca importante para formação da casca do ovo (Rutz et al, 2013).

A síntese e degradação dos ossos são promovidas pela ação de células especializadas, os osteoblastos e os osteoclastos, respectivamente. Os osteoblastos são formadores do tecido ósseo, responsáveis por sintetizar e regular a mineralização da matriz orgânica (colágeno tipo I, proteoglicanas e glicoproteínas adesivas). Ainda, são responsáveis pela produção de cadeias protéicas ricas em aminoácidos, tais como prolina, hidroxiprolina, precursores de colágeno para formação de osteoide. Além de produzirem inúmeros fatores regulatórios, como as prostaglandinas, citocinas e fatores de crescimento, que estimulam tanto a formação como a reabsorção óssea (Motta, 2003; Junqueira & Carneiro, 2004; Faitarone et al., 2012). Os osteoblastos possuem receptores para $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, onde esse metabólito modula a expressão gênica de fosfatase alcalina, osteocalcina, proteína ácida gama-carboxiglutâmica, sendo essencial tanto para formação quanto para a reabsorção óssea (Muszkat et al., 2010; Maeda et al., 2014).

Os osteoclastos têm a finalidade de reparar uma fratura ou mobilizar íons de Ca; contudo, sob controle do PTH, que por sua vez estimula a secreção de enzimas e ácidos

que atuam dissolvendo sais de Ca e digerindo a matriz orgânica (Motta, 2003; Junqueira & Carneiro, 2004; Fatarone et al., 2012).

Outras ações da vitamina D regulando positivamente a formação óssea incluem: a inibição de síntese de colágeno tipo 1 e a atuação direta nos condrócitos da placa de crescimento. O $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ apresenta ações autócrinas via VDR, regulando a diferenciação dos condrócitos, pelo estímulo a produção de ligante do receptor ativador de fator nuclear kappa B (RANK), o que resulta num efeito que facilita a maturação dos precursores de osteoclastos para osteoclastos (Moreira et al., 2004; Marques et al., 2010; Castro, 2011; Peixoto et al., 2012).

O processo de remodelação do osso pode ser dividido em três fases: ativação inicial, resorção e subsequente deposição e calcificação da matriz (osteogênese). Tanto a destruição, como a formação óssea ocorre simultaneamente em diferentes locais do ostéon. Em circunstâncias normais, a superfície do osso é coberta por osteoblastos inativos. Quando inicia a ativação da superfície óssea por estímulo hormonal ou mecânico, os osteoblastos regridem e os osteoclastos são recrutados para a área. Ao mobilizar as reservas de Ca do esqueleto, as poedeiras são capazes de manter os níveis de Ca e P no plasma (Rutz et al., 2013).

Uma vez completamente formado e que o animal atinja seu tamanho esquelético adulto, o osso não se torna uma estrutura totalmente quiescente. Durante toda a vida o osso sofrerá remodelamento, processo em que o osso envelhecido e danificado é substituído por um novo osso com pouca ou nenhuma alteração na massa óssea. O remodelamento ósseo permite ao esqueleto agir como depósito de minerais, permitindo transferir o cálcio e outros íons para dentro ou fora do osso (Reece, 2006).

Os ossos constituem-se de aproximadamente de 70% de minerais, 22% de proteínas e 8% de água. A matriz orgânica do osso é responsável por sua elasticidade, representando aproximadamente 25% do seu peso seco. Os componentes inorgânicos são responsáveis pela rigidez, sendo aproximadamente 75% do seu peso seco, e são compostos formados por fosfato e carbonato de cálcio. Cerca de 30% da porção orgânica da matriz extracelular é composta por proteínas colagenosas (PC), onde 90% são representados por colágeno tipo I e os 10% restante são constituídos por proteoglicanas e proteínas não colagenosas (PNC) e alguns fatores de crescimento (Junqueira & Carneiro, 2004).

As PNC têm múltiplas funções nos ossos, tais como a regulação da mineralização das fibras de colágeno, a modulação da divisão, migração, diferenciação e maturação celular. As proteínas ósseas são elaboradas pelos osteoblastos, tais como

osteopontina, sialoproteína óssea, fibronectina, glicoproteína ácida, sendo que as PNC mais abundantes são osteonectina (ON) e osteocalcina (OC) ou bone Gla protein (BGP). A OC representa 10 a 20% do total das PNC, contém três resíduos do aminoácido g-carboxiglutamato, que confere a molécula uma alta afinidade pelo cálcio nos cristais ósseos. Ainda, a síntese de OC é aumentada pelo $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, sendo sua concentração diretamente proporcional com a do Ca (Avolio et al., 2008; Araújo et al., 2012).

Ao aproximar-se a maturidade sexual, a ave inicia um processo de mudança que permite a formação de ovos, sendo necessária reserva de Ca nos ossos. O começo da ovulação em poedeiras está associado com um aumento da absorção de Ca e por elevadas concentrações de calbindina $\text{D}_{28\text{k}}$, o qual coincide com aumento nas concentrações de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. A calbindina $\text{D}_{28\text{k}}$ tem um sinergismo com esteróides sexuais (estrógeno), relacionado com o crescimento e a maturação do oviduto (Silva, 2014). O estrógeno regula, nos osteoblastos, a expressão de genes que codificam o colágeno tipo I, a fosfatase alcalina e proteínas não colagenosas, aumentando a diferenciação dos osteoblastos e exercendo efeito estimulatório sobre síntese e mineralização da matriz óssea (Ribeiro et al., 2003).

Amoah et al., (2012) observaram interação significativa entre níveis dietéticos de Ca (2,5; 3,0 e 3,5%) e P_{disp} (0,25 e 0,35%) para codornas japonesas em postura (14 - 21 semanas de idade). Os resultados mostraram maior teor de cinzas nas tíbias das aves alimentadas com 3,5% de Ca, independente dos níveis de P_{disp} . Pande et al., (2015) explicaram que níveis adequados de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ são necessários para o desenvolvimento e reparações dos ossos. De modo que elevados valores de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ inibem a diferenciação de osteoblastos, a mineralização de osteócitos e a proliferação de células normais durante a diferenciação osteogênica.

A força óssea tem sido primariamente associada com a formação e manutenção adequada da matriz orgânica óssea, ligações de colágeno e deposição e reabsorção óssea. No entanto, o conteúdo mineral também se faz de relevância, além da correta formação da matriz no início da vida (Oviedo-Rondón & Wineland, 2011). Existe uma interação entre parte orgânica e mineral, pois quanto maior o teor de elementos minerais, maior o módulo de elasticidade, rigidez, porém o tecido fica mais susceptível a trincas (Currey, 2003). Já a matriz orgânica constituída de colágeno, contribui para a tenacidade óssea, modula a resistência do tecido e as propriedades de crescimento, fornecendo suporte orientado para a matriz mineral e contribuindo para a resistência à tração do osso (Müller et al., 2012).

A avaliação bioquímica do teor de proteínas (PC e PNC) e de minerais (cinzas, Ca e P, principalmente) refere-se a uma importante ferramenta que pode ser utilizada para o conhecimento do perfil ósseo das aves. Moraes et al., (2010) mencionaram que animais com alta incidência de problemas locomotores apresentaram maiores teores de PNC. As mudanças nas concentrações dessas proteínas podem contribuir para a fragilidade do osso, por interferir na completa mineralização e/ou arquitetura normal.

A atividade das células ósseas pode ser detectada por meio de marcadores bioquímicos específicos, liberados na circulação sanguínea durante o processo de remodelagem dos ossos. Dentre os marcadores de reabsorção óssea, têm-se as moléculas interligadoras de colágeno tipo I e de formação óssea: a atividade da fosfatase alcalina total (FA), osteocalcina e pró-peptídeo do colágeno tipo I. A FA é medida através de sua atividade e corresponde à soma das diversas isoformas presentes no soro (Saraiva & Lazaretti-Castro, 2002).

Os osteoblastos secretam grandes quantidades de FA no sangue, indicando a deposição ativa de fosfato inorgânico na matriz óssea, sendo um bom indicador de formação óssea (Stanquevis et al., 2015). Acredita-se que a FA aumenta a concentração local de fósforo inorgânico ou ativa as fibras de colágeno, causando deposição de sais de cálcio (Minafra et al., 2008).

A análise bioquímica sérica pode ser utilizada para avaliar e monitorar a condição nutricional e metabólica de animais, servindo também como indicadora dos processos adaptativos e metabólicos do organismo, além de oferecer subsídios na interpretação do funcionamento hepático. Os metabólitos sanguíneos mais comumente avaliados representam as vias metabólicas, sendo as albuminas, as globulinas e as proteínas totais relacionadas ao metabolismo proteico; o Ca e o P inorgânico ao metabolismo mineral (González & Silva, 2006; Bockor, 2010).

O fígado é um órgão central nos processos metabólicos, exercendo múltiplas e importantes funções, centralizando a maior parte do processo homeostático do organismo. Nas aves, apresenta-se normalmente sobrecarregado, pois não possuem sistema linfático plenamente desenvolvido. O estudo das atividades de enzimas de certas vias pode prever o status metabólico e sua habilidade em modificar suas atividades frente às alterações nutricionais e do meio ambiente. Destaca-se a avaliação da alanina aminotransferase (ALT) e da aspartato aminotransferase (AST), que são enzimas importantes no diagnóstico clínico de alterações metabólicas, refletindo a ocorrência de lesão hepatocelular (Schmidt et al., 2007; Minafra et al., 2008; Barbosa et al., 2010).

A elevação dos níveis séricos de ALT e AST pode ser decorrente da ruptura de hepatócitos, resultantes de necroses ou de alterações de permeabilidade da membrana celular (Borsa et al., 2006). Flauzina (2007) explicou que em situações de deficiência nutricional, pode ocorrer grande mobilização de nutrientes do organismo da ave, forçando maior atividade hepática, e hipertrofia do fígado.

A cadeia avícola objetiva a obtenção de melhores índices zootécnicos, associados ao bem-estar e saúde dos animais, bem como ao menor custo de produção e impactos ambientais. Para tal, faz-se de relevância estudar, avaliar e inter-relacionar as variáveis produtivas, fisiológicas, bioquímicas, bem como as alterações no aparelho digestório das aves mediante os diferentes planos nutricionais e condições criatórias.

REFERÊNCIAS

ADEDOKUN, S.A.; ADEOLA, O. Calcium and phosphorus digestibility: metabolic limits. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.22, n.3, p.600-608, 2013.

AGUDA, A.Y.; Sekoni, A.A.; OMAGE, J.J. Requirement of calcium and available phosphorus for laying Japanese quail birds (*Coturnix coturnix japonica*) in Nigeria. **Journal of Animal and Poultry Sciences**, v.4, n.3, p.31-38, 2015.

ALBINO, L.F.T.; BARRETO, S.L.T. **Criação de codornas para produção de ovos e carne**. Viçosa-MG: Aprenda Fácil, 2013, 268p.

ALMEIDA, R.L. **Níveis de cálcio e relação cálcio:fósforo disponível em rações para galinhas poedeiras leves no segundo ciclo de produção**. Dissertação [Mestrado em Zootecnia]. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 50p.

ALVES, M.; BASTOS, M.; LEITÃO, F.; MARQUES, G.; RIBEIRO, G.; CARRILHO, F. Vitamina D – importância da avaliação laboratorial. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, v.8, n.1, p.32-39, 2013.

AMOAHA, J.K.; MARTIN, E.A.; BARROGA, A.J.; GARILLO, E.P.; DOMINGO, I. Calcium and phosphorus requirements of Japanese quail layers. **Journal of Applied Biosciences**, v.54, p.3892-3900, 2012.

APPLEGATE, T.J.; ANGEL, R. Nutrient requirements of poultry publication: history and need for an update. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.23, p.567-575, 2014. <http://dx.doi.org/10.3382/japr.2014-00980>

ARAÚJO, J.A.; SILVA, J.H.V.; AMÂNCIO, A.L.L.; LIMA, C.B.L.; OLIVEIRA, R.A. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.3, p.53-60, 2008.

ARAÚJO, G.M.; VIEITES, F.M.; SOUZA, C.S. Importância do desenvolvimento ósseo na avicultura. **Archivos de Zootecnia**, v.61(R), p.79-89, 2012.

AVOLIO, G.; BRANDÃO, C.M.A.; OLIVEIRA, J.X.; COSTA, C.; ALONSO, G. O papel da vitamina D₃ e da osteocalcina no metabolismo ósseo: uma análise necessária para se otimizar a osseointegração. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, v.26, n.3, p.347-350, 2008.

BACHMANN, H.; AUTZEN, U.F.; WEHR, U.; RAMBECK, W.; MCCORMACK, H.; WHITEHEAD, C.C. The efficacy of a standardised product from dried leaves of *Solanum glaucophyllum* as source of 1,25-dihydroxycholecalciferol por poultry. **British Poultry Science**, v.54, n.5, p.642-652, 2013a.

BACHMANN, H.; OFFORD-CAVIN, E.; PHOTHIRATH, P.; HORCAJADA, M.; ROMEIS, P.; MATHIS, G.A. 1,25-dihydroxyvitamin D₃-glycoside of herbal origin exhibits delayed release pharmacokinetics when compared to its synthetic counterpart. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v.136, p.333-336, 2013.

BAR, A. Calcium homeostasis and vitamin D metabolism and expression in strongly calcifying. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v.151, p.477-490, 2008.

BARBOSA, A.A.; MÜLLER, E.S.; MORAES, G.H.K.; UMIGI, R.T.; BARRETO, S.L.T.; FERREIRA, R.M. Perfil da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase e biometria do fígado de codornas japonesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.2, p.308-312, 2010.

BARBOSA, T.S.; MORI, C.K.; POLÔNIO, L.B.; PONSANO, E.H.G.; CIARLINI, P.C. Perfil bioquímico sérico de galinhas poedeiras na região de Araçatuba, SP. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1583-1588, 2011.

BARRAL, D.; BARROS, A.C.; ARAÚJO, R.P.C. Vitamina D: uma abordagem molecular. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v.7, n.3, p.309-315, 2007.

BARRETO, S.L.T.; PEREIRA, C.A.; UMIGI, R.T.; ROCHA, T.C.; ARAUJO, M.S.; SILVA, C.S.; TORRES FILHO, R.A. Determinação da exigência nutricional de cálcio de codornas japonesas na fase inicial do ciclo de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, p.68-78, 2007.

BERTECHINI, A.G. Metabolismo dos minerais. In: **Nutrição de monogástricos**. Lavras-MG: Editora UFLA, 2012. p.207-255.

BERTECHINI, A.G. Exigências de minerais para aves. In: SAKOMURA, N.K.; SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P.; FERNANDES, J.B.K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal-SP: FUNEP, 2014. p.375-388.

BIKLE, D. **Vitamin D**: production, metabolism, and mechanisms of action. [Updated 2014 Jan 1]. In: DE GROOT, L.J.; BECK-PECCOZ, P.; CHROUSOS, G. et al. editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278935/>> Acessado em 10 fev. 2016 às 08:04:00.

BLANCH, A.; OLIVÉ, M. La vitamina D y sus metabolitos en avicultura. Metabolismos y funciones. **Selecciones Avícolas**, v.56, n.2, p.19-22, 2014. Disponível em: <<http://seleccionesavicolas.com/avicultura/2014/02/la-vitamina-d-y-sus-metabolitos-en-avicultura.-metabolismo-y-funciones>> Disponível em: <<http://seleccionesavicolas.com/avicultura/2014/02/la-vitamina-d-y-sus-metabolitos-en-avicultura.-metabolismo-y-funciones>> Acessado em 12 fev. 2016 às 16:06:00.

BOCKOR, L. **Indicadores bioquímicos do status nutricional**. Seminário [Disciplina Bioquímica do Tecido Animal]. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS, 2010. 23p. Disponível em: <www.ufrgs.br/lacvet/restrito/pdf/indicadores_nutri_luciane.pdf> Acessado em: 22 fev. 2016 08:00:00.

BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; BORETTI, L.P.; SAITO, M.E.; KUIBIDA, K. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.4, p.675-677, 2006.

BRANDÃO, P.A.; COSTA, F.G.P.; SILVA, J.H.V.; BRANDÃO, J.S.; NOBRE, J.G.S.; GOULART, C.C. Exigência de cálcio para codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em postura. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.29, n.1, p.17-21, 2007.

BRITO, J.A.G.; BETERCHINI, A.G.; FASSANI, E.J.; RODRIGUES, P.B.; LIMA, E.M.C.; MENEGHETTI, C. Efeito da vitamina D₃ e 25-hidroxi-colecalciferol sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e a morfologia intestinal de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.2656-2663, 2010.

CARVALHO, L.S.S.; FERNANDES, E.A. Formação e qualidade da casca de ovos de reprodutoras e poedeiras comerciais. **Medicina Veterinária**, v.7, n.1, p.35-44, 2013.

CASTRO, L.C.G. O sistema endocrinológico vitamina D. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.55, n.8, p.566-575, 2011.

CHANG, W.; TU, C.; CHEN, T.; BIKLE, D.; SHOBACK, D. The extracellular calcium-sensing receptor (CaSR) is a critical modulator of skeletal development. **Science Signaling**, v.1, n.35, p.1-23, 2013. DOI:10.1126/scisignal.1159945

CLINTON, S.K. Vitamin D. In: STIPANUK, M.H.; CAUDILL, M.A.C. **Biochemical, physiological, and molecular aspects of human nutrition**. 3.ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders, 2013. p.703-717.

COSTA, C.H.R. **Níveis de fósforo e de cálcio em dietas para codorna japonesa em postura**. Dissertação [Mestrado em Zootecnia]. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 73p.

COSTA, C.H.R.; BARRETO, S.L.T.; MOURA, W.C.O.; REIS, R.S.; LEITE, C.D.S.; MAIA, G.V.C. Níveis de fósforo e cálcio em dietas para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.2037-2046, 2007.

COSTA, C.H.R. **Níveis de cálcio e fósforo em dietas para codornas japonesas de 45 a 57 semanas de idade**. Tese [Doutorado em Zootecnia] Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 84p.

COSTA, C.H.R.; BARRETO, S.L.T.; UMIGI, R.T.; LIMA, H.J.D.; ARAUJO, M.S.; MEDINA, P. Balanço de cálcio e fósforo e estudo dos níveis desses minerais em dietas para codornas japonesas (45 a 57 semanas de idade). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.8, p.1748-1755, 2010.

COSTA, C.H.R.; BARRETO, S.L.T.; GOMES, P.C.; MAIA, G.V.C.; LIPARI, C.A.; HOSODA, L.H. Teores de cálcio em dietas para codornas japonesas no terço final de postura (45 a 57 semanas de idade). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.5, p.1225-1231, 2010a.

COSTA, F.G.P.; SILVA, J.H.V.; LIMA, M.R.; LIMA, R.C.; BEZERRA, R.M.; RODRIGUES, V.B. Relação entre exigências nutricionais vs. qualidade de ovos de codornas japonesas. In: IV Simpósio Internacional, III Congresso Brasileiro de Coturnicultura. **Anais...** Lavras-MG: 2010b. p.50-70.

COSTA, C.H.R.; BARRETO, S.L.T.; GOMES, P.C.; HOSODA, L.H.; LIPARI, C.A.; LIMA, H.J.D. Níveis de fósforo disponível em dietas para codornas japonesas de 45 a 57 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.10, p.2152-2160, 2011.

CURREY, J.D. Role of collagen and other organics in the mechanical properties of bone. **Osteoporos International**, v.14, (Suppl. 5), p.S29-S36, 2003.

DANTAS, A.T.; DUARTE, A.L.B.P.; MARQUES, C.D.L. A vitamina D na artrite reumatóide e no lúpus erimatoso sistêmico. **Temas de Reumatologia Clínica**, v.10, n.2, p.53-59, 2009.

DELEZIE, E.; BIERMAN, K.; NOLLET, L.; MAERTENS, L. Impacts of calcium and phosphorus concentration, their ratio, and phytase supplementation level on growth performance, foot pad lesions, and hock burn of broiler chickens. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.24, n.2, p.115-126, 2015. DOI: 10.3382/japr/pfv011

DENİZ, G.; KOVANLIKAYA, A.; ERTEK, E. Effect of herbal 1,25 dihydroxycholecalciferol supplementation in to layer breeder diets on eggshell quality and hatching results. **Uludag University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine**, v.32, n.2, p.25-29, 2013.

DiBARTOLA, S.P. **Anormalidades de fluidos, eletrólitos e equilíbrio ácido-básico na clínica de pequenos animais**. 3.ed. São Paulo-SP: Roca, 2007. 680p.

DSM, Nutrition Products. **DSM vitamin supplementation guidelines 2011 for domestic animals**. Switzerland, EUA: DSM Nutrition Products, 2011. 14p. Disponível em: <http://www.dsm.com/en_US/anh/public/home/downloads/OVN_supplementation_guidelines.pdf> Acessado em 09 mar. 2013 às 21:48:00.

ESPIL, N.; SPEGAZZINI, E.D. **Plantas tóxicas: “Duraznillo blanco” (Solanum glaucophyllum, Solanaceae), reconocimiento y potencial aprovechamiento industrial**. Buenos Aires-Argentina: Universidad de Belgrano, 2012. Disponível em: <<http://repositorio.ub.edu.ar:8080/xmlui/handle/123456789/1168?show=full>> Acessado em: 14 fev. 2016 às 18:04:00.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY – EFSA. Scientific Opinion on the safety of Solanum glaucophyllum standardised leaves as feed material. **EFSA Journal**, v.13, n.1, p.3967, 2015.

FAITARONE, A.B.G.; GARCIA, E.A.; ARTONI, S.M.B.; SGAVIOLI, S.; SILVA, M.D.P.; GONÇALVES, H.C.; PELÍCIA, K. Qualidade óssea de poedeiras comerciais leves alimentadas com rações suplementadas com diferentes óleos vegetais. **Veterinária e Zootecnia**, v.19, n.3, p.356-365, 2012.

FÉLIX, A.P.; MAIORKA, A.; SORBARA, J.O. Níveis vitamínicos para frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria-RS, v.39, n.2, p.619-626, 2009.

FLAUZINA, L.P. **Desempenho produtivo e biometria de vísceras de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta**. Dissertação [Mestrado em Ciências Agrárias]. Brasília-DF: Universidade Federal de Brasília, 2007. 36p.

FUKAYAMA, E.H.; SAKOMURA, N.K.; DOURADO, L.R.B.; NEME, R.; FERNANDES, J.B.K.; MARCATO, S.M. Efeito da suplementação de fitase sobre o desempenho e a digestibilidade dos nutrientes em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.4, p.629-635, 2008.

FULLER, J.Jr.; GOFF, J.; BEHRENDTS, B.; NISSEN, S.; HORST, R. The effect of feeding Solanum glaucophyllum on eggshell strength in second-cycle White Leghorn hens. In: Abstracts of the Annual Meeting of the Poultry Science Association, Auburn University, Auburn, Alabama, July 31 - August 3, 2005. **Poultry Science**, v. 84, n.1, p.4, 2005. (Only Abstract Available).

GALVÃO, L.O.; GALVÃO, M.F.; REIS, C.M.S.; BATISTA, C.M.A.; CASULARI, L.A. Considerações atuais sobre a vitamina D. **Brasília Médica**, v.50, n.4, p.324-332, 2013.

- GARCIA, E.A.; PIZZOLANTE, C.C. Nutrição de codornas para postura. In: II Simpósio Internacional, I Congresso Brasileiro de Coturnicultura, 12 e 13 de agosto de 2004. **Anais...** Lavras-MG: UFLA, 2004. p.65-76.
- GARCIA, A.F.Q.M.; MURAKAMI, A.E.; MASSUDA, E.M. et al. Milheto na alimentação de codornas japonesas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.1, p.150-159, 2012.
- GARCIA, A.F.Q.M.; MURAKAMI, A.E.; DUARTE, C.R.A.; ROJAS, I.C.O.; PICOLI, K.P.; PUZOTTI, M.M. Use of vitamin D₃ and its metabolites in broiler chicken feed on performance, bone parameters and meat quality. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.26, n.3, p.408-415, 2013.
- GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2.ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 2006. 364p.
- GRÜDTNER, V.S.; WEINGRILL, P.; FERNANDES, A.L. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.37, n.3, p.143-151, 1997.
- GUADARRAMA, E.B. Importancia del calcio en patología endocrinológica. **Anales de Pediatría**, v.54, n.1, p.45-57, 2001.
- HAN, J.; LIU, Y.; YAO, J.; WANG, J.; QU, H.; YAN, Y.; YUE, J.; DING, J.; SHI, Z.; DONG, X. Dietary calcium levels reduce the efficacy of one alpha-hydroxycholecalciferol in phosphorus-deficient diets of broilers. **The Journal of Poultry Science**, v.49, n.1, p.34-38, 2012.
- HOENDEROP, J.G.J.; NILIUS, B.; BINDELS, R.J.M. Calcium absorption across epithelia. **Physiological Reviews**, v.35, n.1, p.373-422, 2005. DOI: 10.1152/physrev.00003.2004
- INDA FILHO, A.J.; MELAMED, M.L. Vitamina D e doença renal. O que nós sabemos e o que nós não sabemos. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v.35, n.4, p.323-331, 2013.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Produção da pecuária municipal 2014. **Produção Pecuária Municipal**, Rio de Janeiro, v.42, p.1-39, 2014.
- JÄPELT, R.B.; JAKOBSEN, J. Vitamin D in plants: a review of occurrence, analysis, and biosynthesis. **Frontiers in Plant Science**, v.4, p.1-20, 2013. DOI: 10.3389/fpls.2013.00136.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 427p.

KESHAVARZ, K. Influence of feeding a high calcium diet for various durations in prelaying period on growth and subsequent performance of white leghorn pullets. **Poltry Science**, v.66, n.10, p.1576-1582, 1987.

KUSSAKAWA, K.C.K.; FARIA, H.G. Discondroplasia tibial em frangos de corte: aspectos nutricionais. **Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar**, v.2, n.3, p.275-282, 1998.

LÁZARO, R.; SERRANO, M.P.; CAPDEVILA, J. **Nutrición y alimentación de avicultura complementaria: codornices**. In: XXI Curso de Especialización FEDNA, Madrid, 7 y 8 de noviembre de 2005. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid, 2005. p.369-408.

LÁZARO, R.; MATEO, G.G.; BARROETA, A.; BARRAGAN, J.I. **Necesidades nutricionales para avicultura: pollos de carne y aves de puesta – Normas FEDNA**. Madrid: Fundación Española para El Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA), 2008. 79p.

LECZNIESKI, J.L. **Por que a formação esquelética é tão importante na cria e recria?** Disponível em: <<http://www.ahoradoovo.com.br/com-a-palavra/artigos-tecnicos/?id=888%7Cpor-que-a-formacao-esqueletica-e-tao-importante-na-cria-e-recria>> Acessado em 18 fev. 2016 às 15:36:00.

LIMA, C.B. **Exigências nutricionais de cálcio e fósforo para manutenção e ganho de codornas em crescimento**. Tese [Doutorado Integrado em Zootecnia]. Areia-PB: Universidade Federal da Paraíba, 2011. 139p.

LONDOWSKI, J.M.; KOST, S.B.; MEIER, W., LABLER, L.; KUMAR, R. Biological activity of the C-1, C-3, C-25, β -D-glucopyranosides of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.237, n.3, p.837-840, 1986.

MACEDO, C.F.; SIPAÚBA-TAVARES, L.H. Eutrofização e qualidade da água na piscicultura: consequências e recomendações. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.36, n.2, p.149-163, 2010.

MAEDA, S.S.; BORBA, V.Z.C.; CAMARGO, M.B.R.; SILVA, D.M.W.; BORGES, J.L.C.; BANDEIRA, F.; LAZARETTI-CASTRO, M. Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.58, n.5, p.411-433, 2014.

MAIORKA, A.; MACARI, M. Absorção de minerais. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária: aplicada a frangos de corte**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2008. p.167-173.

MARQUES, C.D.L.; DANTAS, A.T.; FRAGOSO, T.S.; DUARTE, A.L.B.P. A importância dos níveis de vitamina D nas doenças autoimunes. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.50, n.1, p.67-80, 2010.

MASUKAWA, Y.; FERNANDES, E.B.; MORAES, V.M.B.; ARIKI, J.; BRUNO, L.D.G. Níveis de cálcio da dieta sobre o desempenho e a qualidade da casca de ovos de codornas japonesas. **Ars Veterinaria**, v.17, n.2, p.144-148, 2001.

MATHIS, G.A.; TOGGENBURGER, A.; POKORNY, R.; AUTZEN, S.; IBANEZ, R.; ROMEIS, P.; BACHMANN, H. Review human pharmacokinetic profile of 1,25-dihydroxyvitamin D₃-glycoside of herbal origin. **The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v.144, p.40-43, 2014. DOI: 10.1016/j.jsbmb. 2013.11.016

MATTILA, P.H.; VALKONEN, E.; VALAJA, J. Effect of different vitamin D supplementations in poultry feed on vitamin D content of eggs and chicken meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, n.15, p.8298-8303, 2011. DOI: 10.1021/jf2012634.

MAZZUCO, H. **Osteoporose em poedeiras comerciais: uma doença metabólica multifatorial**. Concórdia-SC: Embrapa Suínos e Aves, 2005. 8p. (Circular Técnica, 43).

MAZZUCO, H. Boas práticas na criação de frangos comerciais. **Revista do Ovo**, p.10-15, 2011.

MAZZUCO, H.; BERTECHINI, A.G. Critical points on egg production: causes, importance and incidence of eggshell breakage and defects. **Ciência & Agrotecnologia**, v.38, n.1, p.7-14, 2014.

MELLO, J.F. **Influência dos níveis de cálcio e fósforo na dieta de matrizes de codornas japonesas, no desempenho produtivo e no desenvolvimento ósseo embrionário da progênie**. Dissertação [Mestrado em Zootecnia]. Maringá-PR: Universidade Estadual de Maringá, 2015. 82p.

MELLO-SILVA, C.C.; LIMA, M.; PINHEIRO, J.; BEZERRA, J.C.B.; RODRIGUES, M.L.A. Alterações fisiológicas em *Biomphalaria glabrata* tratadas com extrato bruto de *Solanum malacoxylon*. **Ciência Animal**, v.16, n.2, p.61-70, 2006.

MINAFRA, C.S.; MORAES, G.H.K.; RODRIGUES, A.C.P.; SILVA, F.A.; STRINGHINI, J.H.; REZENDE, C.S.M. Perfil bioquímico e nutricional do ácido glutâmico e da vitamina K no soro e no fígado de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.11, p.1973-1977, 2008.

MOJICA, C.; BACHMANN, H.; La era moderna de la nutrición de la vitamina D. **WATTagnet**, 27 de agosto, 2012. Disponível em: <<http://www.wattagnet.com/articles/13670-la-era-moderna-de-la-nutricion-de-la-vitamina-d>> Acessado em 14 fev. 2016 às 09:42:00.

MORAES, G.H.K.; RODRIGUES, A.C.P.; SILVA, F.A.; ROSTAGNO, H.S.; MINAFRA, C.S.; BIGONHA, S.M. Efeitos do ácido L-glutâmico e da vitamina K na composição bioquímica parcial de fêmures de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.796-800, 2010.

MOREIRA, R.O.; DUARTE, M.P.C.; FARIAS, M.L. Distúrbios do eixo cálcio-PTH-vitamina D nas doenças hepáticas crônicas. **Arquivos Brasileiro de Endocrinologia & Metabologia**, v.48, n.4, p.443-450, 2004.

MOTTA, V.T. **Bioquímica clínica para o laboratório**: princípios e interpretações. 4.ed. São Paulo: Robe Editorial EDUCS – Caxias do Sul, 2003.

MÜLLER, E.S.; BARBOSA, A.A.; MORAES, G.H.K.; VIEITES, F.M.; ARAÚJO, G.M. Parâmetros químicos, bioquímicos e mecânicos de fêmures de frangos de corte submetidos a diferentes balanços eletrolíticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.6, p.1454-1462, 2012.

MURAKAMI, A.E.; GARCIA, E.R.M. Nutrição de codornas japonesas. In: SAKOMURA, N.K.; SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P.; FERNANDES, J.B.K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal-SP: FUNEP, 2014. p.621-641.

MURATA, L.S.; ARIKI, J.; SANTANA, A.P.; JARDIM FILHO, R.M. Níveis de cálcio e granulometria do calcário sobre o desempenho e a qualidade de ovos de poedeiras comerciais. **Biotemas**, v.22, n.1, p.103-110, 2009.

MUSZKAT, P.; CAMARGO, M.B.R.; GRIZ, L.H.M.; LAZARETTI-CASTRO, M.; Evidence-based non-skeletal actions of vitamin D. **Arquivos Brasileiro de Endocrinologia & Metabologia**, v.54, n.2, p.110-117, 2010.

NASCIMENTO, A.H.; SILVA, M.A.; LIMA, I.L. Níveis nutricionais utilizados para frangos de corte pela indústria no Brasil. In: II Simpósio Internacional sobre Exigências de Aves e Suínos, Viçosa-MG, 29 a 31 de março de 2005. **Anais...** Viçosa-MG: UFV, 2005. p.331-347.

NASCIMENTO, M.Q. **Níveis de cálcio e de fósforo em dietas para codornas japonesas utilizando fosfato bicálcico com duas granulometrias**. Dissertação. [Mestrado em Ciências Veterinárias] Alegre-ES: Universidade Federal do Espírito Santo, 2013. 83p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirements of ring-necked pheasants, japanese quail and bobwhite quail. In: **Nutrient requirements of poultry**. 9th. rev. ed. Washington: National Academy Press, 1994. p.44-45 (Nutrient requirements os domestic animals)

NIE, W.; YANG, Y.; YUAN, J.; WANG, Z.; GUO, Y. Effect of dietary nonphytate phosphorus on laying performance and small intestinal epithelial phosphate transporter expression in Dwarf pink-shell laying hens. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v.4, n.34, p.1-7, 2013. DOI: 10.1186/2049-1891-4-34.

NUNES, R.V.; POZZA, P.C.; SCHERER, C.; CAMPESTRINI, E.; ROCHA, L.D.; NUNES, C.G.V.; COSTA, F.G.P. Efeito dos teores de cálcio para poedeiras semipesadas durante a fase de pré-postura e no início da postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.2007-2012, 2006.

OVIEDO-RONDÓN, E.O.; WINELAND, M.J. Problemas locomotores em frangos e perus – papel da incubação. In: 22º Congresso Brasileiro de Avicultura, 25 a 27 out. 2011. **Anais...** São Paulo: União Brasileira de Avicultura (UBABEF), 2011. p.51-63.

PANDE, V.V.; CHOUSALKAR, K.C.; BHANUGOPAN, M.S.; QUINN, J.C. Super pharmacological levels of calcitriol (1,25-(OH)₂D₃) inhibits mineral deposition and decreases cell proliferation in a strain dependent manner in chicken mesenchymal stem cells undergoing osteogenic differentiation in vitro. **Poultry Science**, v.94, n.11, p.2784-2796, 2015. DOI: 10.3382/ps/pev284.

PASTORE, S.M.; OLIVEIRA, W.P.; MUNIZ, J.C.L. Panorama da coturnicultura no Brasil. **Revista Nutritime**, v.9, n.6, p. 2041-2049, 2012.

PASTORE, S.M.; OLIVEIRA, W.P.; BONAPARTE, T.P. Interação exigência de lisina digestível com ambiente térmico para poedeiras em produção. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.11, n.3, p.3410-3429, 2014.

PEDROSO, A.A.; MORAES, V.M.B.; ARIKI, J.; KRONKA, S.N. Efeito de níveis dietéticos de cálcio e fósforo disponível sobre o desempenho e qualidade dos ovos de codornas japonesas. **Ars Veterinaria**, v.15, n.2, p.135-139, 1999.

PEIXOTO, P.V.; KLEM, M.A.P.; FRANCA, T.N.; NOGUEIRA, V.A. Hipervitaminose D em animais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.7, p.573-594, 2012.

PINHEIRO, S.R.F.; OLIVEIRA, R.G.; GOULART, K.B.; PIRES, A.V.; GONÇALVES, F.M.; DRUMOND, E.S.C.; COSTA, L.S.; CARVALHO, D.C.O. Fósforo disponível na ração de codornas de corte em fase de crescimento. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.16, n.4, p.818-826, 2015.

PINTO, S.; BARROS, C.S.; SLOMP, M.N.; LÁZZARO, R.; COSTA, L. F.; BRUNO, L.D.G. Cálcio e fósforo na dieta de galinhas de postura: uma revisão. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.11, n.1, p 5-18, 2012.

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

PIZAURO JÚNIOR, J.M. Estrutura e função do tecido ósseo. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária: aplicada a frangos de corte**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2008. p.247-265.

PIZZOLANTE, C.C.; SALDANHA, E.S.P.B.; GARCIA, E.A.; SOUZA, H.B.A.; SCATOLINI, A.M.; BOIAGO, M.M. Efeito do horário de fornecimento de rações contendo diferentes níveis de cálcio sobre o desempenho produtivo e qualidade de ovos de codornas japonesas (*Coturnix japonica*) em final de produção. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.4, p.677-683, 2007.

PROSZKOWIEC-WEGLARZ, M.; ANGEL, R. Calcium and phosphorus metabolism in broilers: effect of homeostatic mechanism on calcium and phosphorus digestibility. **The Journal of Applied Poultry Research**, v.22, n.3, p.609-627, 2013. DOI: 10.3382/japr.2012-00743.

RAMBECK, W.A.; BACHMANN, H.; BOLAND, R. Las tres diferentes formas de la vitamina D en nutrición animal. **WATTagnet**, 25 de novembro, 2015. Disponível em: <<http://www.wattagnet.com/articles/25076-las-tres-diferentes-formas-de-la-vitamina-d-en-nutricin-animal>> Acessado em 14 fev. 2016 às 09:54:00.

REECE, W.O. **DUKES, Fisiologia dos animais domésticos**. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 926p.

RIBEIRO, A.F.C.; SERAKIDES, R.; NUNES, V.A.; SILVA, C.M.; OCARINO, N.M.; A osteoporose e os distúrbios endócrinos da tireóide e das gônadas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.47, n.3, p.228-236, 2003.

RODRIGUES, E.A.; JUNQUEIRA, O.M.; ANDREOTTI, M.O.; CANCHERINI, L.C.; LAURENTIZ, A.C.; CASARTELLI, E.M.; FILARDI, R.S. Níveis de cálcio e vitamina D nas rações de pré-postura sobre o desempenho e qualidade da casca do ovo de poedeiras comerciais. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.27, n.1, p.61-66, 2005.

RODRIGUES, P.B.; AVARENGA, R.R.; NAVES, L.P.; NAGATA, A.K. Alimentos e exigências nutricionais de codornas japonesas. In: V Simpósio Internacional, IV Congresso Brasileiro de Coturnicultura. **Anais...** São Carlos-SP: Suprema Gráfica, 2013. p.65-84.

ROSA, G.A.; SORBELLO, L.A.; DITTRICH, R.L. Perfil hematológico de codornas japonesas (*Coturnix japonica*) sob estresse térmico. **Ciência Rural**, v.41, n.9, p.1065-1610, 2011.

ROSENBERG, S.; WEHR, U.; BACHMANN, H. Effect of vitamin D-containing plant extracts on osteoporotic bone. **The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v.103, n.3-5, p.596-600, 2007.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F. de; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L. de T.; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.ed. Viçosa-MG: UFV/DZO, 2011. 252p.

RUTZ, F.; ANCIUTI, M.A.; XAVIER, E.G.; ROLL, V.F.B.; ROSSI, P. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.3, p.307-317, 2007.

RUTZ, F. Absorção de vitaminas. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária: aplicada a frangos de corte**. 2.ed. Jaboticabal-SP: FUNEP/UNESP, 2008. p.149-165.

RUTZ, F.; NUNES, J.K.; GONÇALVES, F.M.; SANTOS, V.L.; NOVELINI, L. Impacto da qualidade óssea o bem-estar de poedeiras. In: XXIII Congresso Brasileiro de Zootecnia – Zootec, Foz do Iguaçu, 06 a 09 de maio de 2013. **Anais... Zootecnia do Futuro: Produção Animal Sustentável**. Foz do Iguaçu-PR: Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2013.

RUTZ, F.; ANCIUTI, M.A.; MAIER, J.C. Digestão, absorção e metabolismo das vitaminas. In: SAKOMURA, N.K.; SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P.; FERNANDES, J.B.K.; HAUSCHILD, L. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal-SP: FUNEP, 2014. p.143-166.

SALVADOR, D.; FARIA, D.E.; MAZALLI, M.R.; ITO, D.T.; FARIA FILHO, D.E.; ARAÚJO, L.F. Vitaminas D e C para poedeiras na fase inicial de produção de ovos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38. n.5, p.887-892, 2009.

SARAIVA, G.L.; LAZARETTI-CASTRO, M. Marcadores bioquímicos da remodelação óssea na prática clínica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.46, n.1, p.72-78, 2002.

SBANO, P.T. **Níveis de cálcio para codornas japonesas em postura**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Zootecnia). Boa Vista-RR: Universidade Federal de Roraima, 2012. 37p.

SEPÚLVEDA, C.A.G.; ROSALES, R.B. Mecanismos de acción de la vitamina D₃, 1- α -hidroxicolecalciferol (1- α -OH-D₃) y 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D₃) en gallinas de postura comercial. **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v.9, n.1, p.114-127, 2014.

SCHMIDT, E.M.S.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SANTIN, E.; PAULILLO, A.C. Patologia clínica em aves de produção – uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.3, p.9-20, 2007.

SILVA, A.P. **Níveis de cálcio e fósforo na dieta de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em diferentes fases do ciclo de produção e seus efeitos sobre desempenho produtivo e qualidade dos ovos.** Dissertação. [Mestrado em Zootecnia] Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2011. 47p.

SILVA, E.A. **Níveis de cálcio e relações cálcio:fósforo em rações para galinhas poedeiras.** Tese [Doutorado em Zootecnia]. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa, 2014. 130p.

SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P. **Tabelas para codornas japonesas e europeias.** 2.ed. Jaboticabal-SP: 2009. 107p.

SILVA, J.H.V.; JORDÃO FILHO, J.; COSTA, F.G.P.; LACERDA, P.B.; VARGAS, D.G.V.; LIMA, M.R. Exigências nutricionais de codornas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.3, p.775-790, 2012.

SMITH, E.L.; HILL, R.L.; LEHMAN, I.R.; LEFKOWITZ, R.J.; HANDLER, P.; WHITE, A. **Bioquímica:** mamíferos. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 620p.

SOUZA, C.S.; VIEITES, F.M.; VASCONCELLOS, C.H.F.; CALDERANO, A.A.; NUNES, R.V.; FERREIRA, C.M.; PEREIRA, T.V.S.; MORAES, G.H.K. Suplemento de 1,25 dihidroxicolecalciferol e redução de cálcio e fósforo disponível para frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.2, p.519-525, 2013.

SOUZA, C.S.; VIEITES, F.M. Vitamina D₃ e seus metabólitos para frangos de corte. **Archivos de Zootecnia**, v.63(R), p.11-24, 2014.

STANFORD, M. Effects of UVB radiation on calcium metabolism in psittacine birds. **The Veterinary Record**, v.159, n.8, 236-241, 2006.

STANQUEVIS, C.E.; FURLAN, A.C.; MARCATO, S.M.; ZANCANELA, V.; GRIESER, D.O.; PERINE, T.P.; FINCO, E.M.; EUZÉBIO, T.C. Vitamin K supplementation for meat quail in growth of 1 to 14 days old. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.6, p.4003-4012, 2015.

TRENCHI, H.; URIARTE, G.; MATTOS, J.; OCHS, H.; PODESTA, C.; JIMENEZ, J. Alteraciones bioquímicas y anatomopatológicas producidas por *Solanum malacoxylon* em aves de postura y su acción sobre sus huevos. **Anales de La Facultad de Veterinaria Del Uruguay**, v.26-29, p.93-107, 1989-1992. Disponível em: <<http://www.fvet.edu.uy/?q=biblioteca/anales-de-la-facultad-de-veterinaria-del-uruguay-1954-1992>>. Acessado em 22 jan. 2016 às 12:32:00.

VARGAS JUNIOR, J.G.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C.; CUPERTINO, E.S.; CARVALHO, D.C.O.; NASCIMENTO, A.H. Níveis nutricionais de cálcio e fósforo disponível para aves de reposição leves e semipesadas de 0 a 6 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1919-1926, 2003 (Supl.2).

VARGAS JUNIOR, J.G.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C.; CARVALHO, D.C.O.; CUPERTINO, E.S.; TOLEDO, R.S.; PINTO, R. Níveis nutricionais de cálcio e de fósforo disponível para aves de reposição leves e semipesadas de 13 a 20 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.5, p.1263-1273, 2004.

VIEIRA, D.V.G.; BARRETO, S.L.T.; VALERIANO, M.H.; JESUS, L.F.D.; SILVA, L.F.F.; MENCALHA, R.; BARBOSA, K.S.; MENDES, R.K.V.; CASSUCE, M.R.; MELO, T.S. Exigências de cálcio e de fósforo disponível para codornas japonesas de 26 a 38 semanas de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.1, p.204-213, 2012.

VIEITES, F.M.; ARAÚJO, G.M.; VALE, P.A.C.B.; SOUZA, C.S.; NÉVOA, M.L.; VARGAS JÚNIOR, J.G.; NUNES, R.V.; ARRUDA, N.V.M. Balanço de minerais e desempenho em frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com rações contendo *Solanum malacoxylon*. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.16, n.3, p.535-543, 2015.

ZIMMERMAN, D.R.; KOSZEWSKI, N.J.; HOY, D.A.; GOFF, J.P.; HORST, R.L. Targeted delivery of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ to colon tissue and identification of a major 1,25-dihydroxyvitamin D₃ glycoside from *Solanum glaucophyllum* plant leaves. **The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v.148, p.318-325, 2015.

4. HIPÓTESES

Experimento 1. As codornas japonesas em pós-pico de postura alimentadas com rações suplementadas com 1,25-dihidroxivitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal apresentarão melhores resultados produtivos e fisiológicos.

Experimento 2. As codornas japonesas em pós-pico de postura alimentadas com rações com níveis reduzidos de Ca e P_{disp} (em 15 e 30%) associados ao suplemento de 1,25-dihidroxivitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal apresentarão melhores resultados produtivos e fisiológicos.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo Geral

Avaliar o desempenho zootécnico, a qualidade dos ovos, a bioquímica óssea e sérica de codornas japonesas em postura alimentadas com rações suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal associada ou não aos níveis reduzidos de cálcio e fósforo disponível.

5.2 Objetivos Específicos

- Avaliar as características produtivas: consumo de ração, produção de ovos (aves/dia; ave/alojada; comercializáveis), peso e massa de ovos, conversão alimentar (por dúzia e por massa de ovos), viabilidade das aves, componentes (albúmen, casca e gema) e gravidade específica dos ovos, espessura e teor mineral (cinzas) da casca dos ovos;
- Examinar a biometria dos órgãos do aparelho digestório (coração, fígado, moela, pâncreas e intestino);
- Estimar o teor mineral total retido nas excretas das aves;
- Avaliar a resistência à quebra, a densidade óssea (Índice de Seedor) e a composição orgânica (proteínas colagenosas e não colagenosas) e mineral (cinzas, percentuais de cálcio (Ca), fósforo (P), relação Ca:P) dos ossos (tíbias e fêmures);
- Determinar o perfil bioquímico sérico: albumina, globulina, proteínas totais, cálcio total e fosfato;
- Verificar a atividade sérica das enzimas: fosfatase alcalina total, alanina e aspartato aminotransferase.

Capítulo 1

Desempenho, qualidade de ovos e biometria visceral de codornas japonesas suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Desempenho, qualidade de ovos e biometria visceral de codornas japonesas suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Resumo: Avaliou-se a suplementação com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo (1,25(OH)₂D₃) de origem vegetal nas rações para codornas japonesas em postura de 36 a 45 semanas de idade. Foi utilizado delineamento em blocos casualizados, com cinco tratamentos: 0,0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração; com seis repetições e seis aves por unidade experimental. Não houve efeito significativo (p>0,05) do 1,25(OH)₂D₃ sobre as características produtivas: consumo de ração, produção de ovos por ave dia e por ave alojada, ovos comercializáveis, peso médio do ovo, massa de ovos, conversão alimentar por dúzia e por massa de ovos. A adição de 0,75 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração proporcionou maior espessura e percentual de cinzas nas cascas dos ovos (p<0,05). Os pesos e os respectivos percentuais relativos do coração, fígado, moela e pâncreas, o comprimento intestinal e a excreção mineral não foram influenciados pela vitamina. Conclui-se que o suplemento de 1,25(OH)₂D₃ de origem vegetal nas rações para codornas japonesas não afetou a produtividade, as excretas e a biometria de órgãos do aparelho digestório, todavia, verificou-se melhoria na qualidade dos ovos.

Palavras-chave: biomolécula, cinzas, Coturnix coturnix japonica, espessura da casca, produção de ovos, Solanum glaucophyllum

Performance, egg quality and visceral biometric of laying Japanese quails fed with supplement of 1,25-dihydroxyvitamin-D₃-glycoside of plant origin

Abstract: It was evaluated supplementation with 1,25-dihydroxyvitamin-D₃-glycoside (1,25(OH)₂D₃) of plant origin in rations for laying quails 36-45 weeks of age. It was used a randomized block design, with five treatments: 0.0; 0.25; 0.50; 0.75 and 1.00 µg 1,25(OH)₂D₃/kg diet; with six replicates and six birds each. There was no significant effect (p>0.05) 1,25(OH)₂D₃ on the productive characteristics: feed intake, egg production per day and per bird housed, commercial egg production, average egg weight, egg mass, feed conversion per dozen and egg mass. The addition of 0.75 µg 1,25(OH)₂D₃/kg diet provided greater thickness and percentage of ash in the eggshells (p<0.05). The respective percentages relative and weights of heart, liver, gizzard, pancreas, intestinal length and mineral excretion were not affected by the vitamin. It is concluded that the supplement 1,25(OH)₂D₃/kg of plant origin in feed for Japanese quail

did not affect productivity, excreta and biometrics organs of the digestive system, however, it found improvement in the quality of eggs.

Keywords: ash, biomolecule, *Coturnix coturnix japonica*, eggs production, shell thickness, *Solanum glaucophyllum*

Introdução

A exploração coturnícola no Brasil vem crescendo nos últimos anos. O efetivo de codornas foi de 20,34 milhões de cabeças em 2014, incremento de 11,9% no plantel, em relação ao registrado em 2013. Ainda, a produção de ovos foi 14,7% maior, sendo de 392,73 milhões de dúzias de ovos (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 2014).

Dentre as espécies de codornas, a *Coturnix coturnix japonica* (codornas japonesas), utilizada para produção de ovos, é a que mais se destaca. O seu uso comercial decorreu de inúmeros fatores, tais como a pequena exigência de espaço, rápido ciclo de produção, maturidade sexual precoce, elevada eficiência produtiva, grande resistência a enfermidades, baixo investimento inicial à produção e rápido retorno do capital (Rosa et al., 2011).

No que se refere à produção de codornas japonesas, existem informações limitadas acerca das exigências nutricionais. Isso pode comprometer os custos com a alimentação ao subestimar ou superestimar suas exigências, e ainda causar prejuízos ao setor. Assim, é importante conhecer o metabolismo desses animais, de modo a proporcionar uma nutrição de precisão, para melhorar o desempenho produtivo (Garcia et al., 2012).

O uso de programas alimentares balanceados objetiva reduzir os custos, bem como minimizar impactos ambientais advindos de resíduos da produção animal, por meio do suprimento exato de nutrientes aos animais. Dentre tais nutrientes, têm-se as vitaminas, essenciais para o desenvolvimento animal. Essas participam como cofatores em reações metabólicas e permitem maior eficiência nos sistemas bioquímicos. A suplementação vitamínica representa 1,0 a 3,0% dos custos das rações (Rutz, 2008; Félix et al., 2009; Souza et al., 2013).

As aves de postura modernas são sensíveis às variações nutricionais da dieta, e nos estudos com esses animais, busca-se maior produção de ovos, boa conversão alimentar e menor porcentagem de ovos defeituosos (Costa et al., 2008). A nutrição adequada é imprescindível para a manutenção óssea e formação da casca do ovo durante a fase de postura.

O uso de vitamina D e seus metabólitos nas rações para frangos de corte não tem prejudicado o desempenho zootécnico, ainda tem demonstrado melhorias na utilização do fósforo, incremento no teor de cinzas dos ossos, proporcionando maior qualidade óssea das aves (Garcia et al., 2013; Souza e Vieites, 2014). A vitamina D₃ ativa, o 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25(OH)₂D₃), refere-se à forma que tem apresentado maior efeito na prevenção de problemas ósseos, tais como discondroplasia tibial, raquitismo e osteoporose e ainda melhora nas variáveis produtivas e de qualidade da casca do ovo (Mojica e Bachmann, 2012; Rambeck et al., 2015).

A vitamina D₃ exerce várias funções fisiológicas no metabolismo do cálcio (Ca) e do fósforo (P), incluindo manter a concentração desses minerais no sangue, estimular a absorção intestinal, a reabsorção renal e a incorporação desses minerais na matriz óssea. Em aves de produção, a referida vitamina é essencial para manter a produção de ovos, formação da casca e homeostase do Ca (Sepúlveda e Rosales, 2014). Apesar dos resultados positivos observados para frangos de corte, ainda há falta de informações acerca dos efeitos do 1,25(OH)₂D₃ para aves de postura, em especial, codornas japonesas, justificando-se assim a realização do presente estudo.

Objetivou-se avaliar o desempenho zootécnico, a qualidade dos ovos, a biometria de órgãos do aparelho digestório e as excretas de codornas japonesas em postura alimentadas com rações suplementadas de 1,25-dihidroxitamina D₃-glicosídeo de origem vegetal.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG, com duração de 63 dias (três períodos de 21 dias). O projeto obteve Registro no Comitê de Ética para Uso de Animais de Produção – CEUAP, DZO/UFV - n.º: 82/2013 (**Anexo A**). Foram utilizadas 180 codornas (*Coturnix coturnix japonica*), de 36 a 45 semanas de idade. O delineamento experimental foi em Blocos Casualizados (DBC), sendo cinco tratamentos (0,0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 µg de 1,25-dihidroxitamina D₃ (1,25(OH)₂D₃)/kg de ração); com seis repetições de seis aves por unidade experimental. O critério usado para a formação dos blocos foi o peso das aves (leves e pesadas). A densidade animal por unidade experimental foi de 141,66 cm²/ave.

As rações foram formuladas seguindo-se as recomendações de Rostagno et al. (2011). O produto comercial utilizado como fonte da vitamina D₃ ativa (10 ppm de

1,25(OH)₂D₃/kg), de origem vegetal – *Solanum glaucophyllum*, foi incluso nas rações em substituição ao material inerte (areia), **Tabela 1**.

Tabela 1. Composição das rações experimentais, na matéria natural

Ingredientes (kg)	Tratamentos (µg 1,25(OH) ₂ D ₃ /kg de ração)				
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00
Milho	56,990	56,990	56,990	56,990	56,990
Farelo de soja	32,553	32,553	32,553	32,553	32,553
Óleo de soja	1,274	1,274	1,274	1,274	1,274
Calcário	6,802	6,802	6,802	6,802	6,802
Fosfato bicálcico	1,071	1,071	1,071	1,071	1,071
Sal	0,323	0,323	0,323	0,323	0,323
Lisina-HCl	0,193	0,193	0,193	0,193	0,193
DL-metionina	0,372	0,372	0,372	0,372	0,372
L-triptofano	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013
L-arginina	0,049	0,049	0,049	0,049	0,049
Premix vitamínico ¹	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix mineral ²	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Cloreto de colina	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Antioxidante ³	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Fonte de 1,25-dihidroxitamina-D₃⁴	0,000	0,0025	0,005	0,0075	0,010
Inerte ⁵	0,100	0,098	0,095	0,093	0,090
Total (kg)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição Calculada					
Proteína bruta (%)	19,70	19,70	19,70	19,70	19,70
Energia metabolizável (kcal/kg)	2800	2800	2800	2800	2800
Cálcio	2,922	2,922	2,922	2,922	2,922
Fósforo disponível (%)	0,304	0,304	0,304	0,304	0,304
Sódio (%)	0,146	0,146	0,146	0,146	0,146
Lisina digestível (%)	1,097	1,097	1,097	1,097	1,097
Metionina+ Cistina digestível (%)	0,900	0,900	0,900	0,900	0,900
Treonina digestível (%)	0,665	0,665	0,665	0,665	0,665
Triptofano digestível (%)	0,230	0,230	0,230	0,230	0,230
Arginina digestível (%)	1,273	1,273	1,273	1,273	1,273
Valina digestível (%)	0,829	0,829	0,829	0,829	0,829
Isoleucina digestível (%)	0,762	0,762	0,762	0,762	0,762
Glicina+ Serina digestível (%)	1,634	1,619	1,619	1,619	1,634
Leucina digestível (%)	1,537	1,537	1,537	1,537	1,537
Ácido linoleico (%)	2,048	2,048	2,048	2,048	2,048
Fibra bruta (%)	2,711	2,711	2,711	2,711	2,711

¹Composição/kg de produto: Vit. A: 12.000.000 U.I., Vit. D₃: 3.600.000 U.I., Vit. E: 3.500 U.I., Ácido nicotínico: 40.000 mg, Ácido pantotênico: 12.000 mg, Vit. B₁₂: 20.000 mg, Vit. B₂: 8.000 mg, Vit. B₆: 5.000 mg, Vit. K: 3.000 mg, Vit. B₁: 2.500 mg, Ácido fólico: 1.500mg, Biotina: 200 mg, Veículo q.s.p.: 1.000 g. ²Composição/kg de produto: Manganês: 160 g, Ferro: 100 g, Zinco: 100 g, Cobre: 20 g, Cobalto: 2 g, Iodo: 2 g, Selênio: 150 mg, Veículo q.s.p.: 1000 g. ³Butil-hidróxi-tolueno, 99%. ⁴Produto comercial, fonte de vitamina D₃ ativa de origem vegetal – *Solanum glaucophyllum*, contendo 10 ppm de 1,25(OH)₂D₃/kg de produto. ⁵Areia

As temperaturas (mínima e máxima) no galpão foram registradas uma vez ao dia, às 16:00 horas, e a umidade relativa do ar, duas vezes ao dia, às 08:00 e às 16:00 horas, por meio de um termo-higrômetro digital, posicionado no centro do galpão à altura da aves. O fornecimento de luz foi de 17 horas diárias, sendo controlado por um relógio automático (timer), que permitiu o acender e o apagar das luzes durante o período da noite, conforme o procedimento adotado em granjas comerciais.

O peso médio das aves no início do experimento foi $210 \pm 0,016$ gramas (36 semanas de idade) e no término $215 \pm 0,014$ gramas (45 semanas de idade). A água e a ração foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental. As sobras e os desperdícios foram pesados e descontados da quantidade de ração pesada inicialmente, e fornecida nos diferentes períodos. Ao final de cada período de 21 dias foi realizada a divisão da quantidade de ração consumida pelo número de aves de cada tratamento e pelo número de dias, sendo expresso em gramas de ração consumida/ave/dia. No caso de mortalidade das aves durante o período experimental, o seu consumo médio foi corrigido.

A produção média de ovos foi obtida coletando-se diariamente o número de ovos produzidos, incluindo os quebrados, os trincados e os anormais (ovos com casca mole e sem casca), sendo expressa em porcentagem sobre a média de aves do período (ovo/ave/dia) e, sobre a média de aves alojadas no início do experimento (ovo/ave alojada). A relação de ovos íntegros produzidos foi expressa em porcentagem para cada tratamento, correspondendo à produção de ovos comercializáveis.

Todos os ovos íntegros produzidos em cada repetição foram pesados durante os três últimos dias de cada período (19°, 20° e 21° dia), para a obtenção do peso médio, que por sua vez, foi multiplicado pelo número total de ovos produzidos no período experimental, obtendo-se assim a massa total de ovos. Esta massa foi dividida pelo número total de aves por dia, sendo expressa em gramas de ovo/ave/dia. A conversão alimentar por dúzia de ovos foi determinada pelo consumo total de ração em quilogramas dividido pelas dúzias de ovos produzidos (kg/dúzia) e a conversão por massa de ovos, pela massa de ovos em quilogramas (kg/kg).

No 16° e 17° dia de cada período, todos os ovos íntegros coletados foram submetidos à análise de gravidade específica, sendo imersos e avaliados em soluções salinas de NaCl, com densidade variando de 1,055 a 1,100 g/cm^3 , com intervalos de 0,005 g/cm^3 entre elas. A densidade foi medida por meio de um densímetro (Incoterm-OM-5565®).

Foram avaliados os pesos da gema, do albúmen e da casca dos ovos, sendo que quatro ovos aleatoriamente de cada repetição foram separados nos dois últimos dias (20° e 21° dia) consecutivos de cada período. Os ovos foram pesados individualmente em balança com precisão de $\pm 0,001\text{g}$. Após as pesagens dos ovos, os ovos foram quebrados e o peso da gema de cada ovo foi registrado. A respectiva casca foi lavada e seca ao ar, e posteriormente pesada. O peso do albúmen foi obtido entre a diferença do

peso do ovo e o peso da gema mais o peso da casca. Os valores percentuais dos componentes dos ovos também foram calculados.

A medida da espessura das cascas (obtidas das análises de componentes) foi realizada utilizando um paquímetro digital (Mitutoyo® 0-150mm, precisão 0,001mm). As cascas foram medidas em três pontos distintos da área equatorial para a obtenção da média da espessura. A determinação de cinzas nas cascas seguiu a metodologia descrita em Silva e Queiroz (2006).

No final do período experimental de 63 dias, uma ave/repetição foi pesada, sacrificada por sangria e os órgãos do aparelho digestório (coração, fígado, moela, pâncreas e o intestino) foram removidos e imediatamente pesados. O comprimento do intestino foi mensurado com auxílio de régua métrica, medindo-se do início do duodeno até a cloaca, seguindo-se a metodologia de Rezende et al., (2004).

No ensaio de digestibilidade, quatro repetições de cada tratamento foram escolhidas ao acaso, sendo as aves alojadas em gaiolas, dispostas em dois andares. Sob o piso das gaiolas foi colocada bandeja de chapa metálica galvanizada, o comedouro posicionado na parte frontal da gaiola e o bebedouro na parte posterior da mesma. As aves foram submetidas a um período de adaptação ambiental, de dois dias, e logo após, procedeu-se a coleta total de excretas, duas vezes ao dia, por três dias consecutivos, sendo armazenadas em freezer.

O material coletado foi descongelado, homogeneizado, pesado e alíquotas foram colocadas em estufa de ventilação forçada, por 72 horas a 55 °C, para pré-secagem. Em seguida, foram moídas, em moinho tipo pulverizador (Fritsch Pulverisett 14®, peneira com malha de 0,5 mm, velocidade de 6000 rpm) para análises seguintes. Na determinação de matéria seca, as amostras previamente secadas, foram pesadas e levadas para estufa, a 105°C por 16 horas. A quantificação de cinzas seguiu metodologia de Silva e Queiroz (2006). Com base nos resultados laboratoriais, foram calculados os percentuais de matéria seca e cinzas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão, considerando o nível de 5% de probabilidade. A escolha do teste Student-Newman-Kewls (SNK) seguiu as recomendações de Sampaio (2010), levando em consideração o coeficiente de variação e o número de médias a serem comparadas. As análises foram realizadas utilizando o software SISVAR, versão 5.6 (Build 86), de análises estatísticas e planejamento de experimento (Ferreira, 2014).

Resultados e Discussão

As médias de temperaturas mínima e máxima e da umidade relativa do ar na manhã e na tarde, registradas no interior do galpão, foram $16,0 \pm 1,90^{\circ}\text{C}$, $26,4 \pm 1,73^{\circ}\text{C}$, $64,6 \pm 7,87\%$ e $81,9 \pm 3,58\%$, respectivamente. A faixa de conforto térmico das codornas na fase adulta está compreendida entre 18 e 28°C e a umidade relativa, entre 65 e 70% (Oide, 2013; Guimarães et al., 2014). Assim, pode-se inferir que as aves estiveram em conforto térmico durante o período experimental.

Não houve efeito ($P > 0,05$) do 1,25-dihidroxitamina D_3 ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) sobre as características produtivas: consumo de ração, produção de ovos por ave dia e por ave alojada, ovos comercializáveis, peso médio do ovo, massa de ovos, conversão alimentar por dúzia e por massa de ovos e a viabilidade das aves (**Tabela 2**). Possivelmente, as aves foram capazes de metabolizar suficiente $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ a partir do colecalciferol dietético, e/ou utilizar a quantidade adicional do referido metabólito na manutenção da performance produtiva. De modo similar, Frost e Roland (1990) ao avaliarem o fornecimento suplementar de 1α -hidroxicolecalciferol ($1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$) e $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (0; 0,75; 1,50; 3,50; e 4,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) nas rações para poedeiras (HyLine W36), com 53 semanas de idade, também não observaram diferenças nas variáveis produtivas e de qualidade de casca dos ovos ($P > 0,05$).

Tabela 2. Desempenho de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo 1,25-dihidroxitamina- D_3 -glicosídeo de origem vegetal

Variável	μg de 1,25-dihidroxitamina- D_3 / kg de ração					CV %	P Valor
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00		
CR ¹ (g/ave/dia) ^{ns}	28,61	29,25	28,80	28,67	28,50	2,92	0,5819
PO ² por dia (%) ^{ns}	84,28	89,98	88,46	85,97	83,73	7,55	0,4193
PO ² por ave alojada (%) ^{ns}	84,17	89,95	88,36	85,94	83,64	7,69	0,4313
PO ² comercializáveis (%) ^{ns}	98,82	99,35	99,00	99,07	99,35	0,77	0,7108
Peso dos ovos (g) ^{ns}	12,37	12,55	12,22	12,40	12,35	3,07	0,6783
MO ³ (g ovo/ave/dia) ^{ns}	10,42	11,26	10,80	10,65	10,33	6,73	0,2155
CA ⁴ por MO ³ (kg/kg) ^{ns}	2,74	2,58	2,63	2,68	2,71	5,43	0,3228
CA ⁴ por dúzia (kg ração/dúzia) ^{ns}	0,407	0,388	0,386	0,399	0,401	6,26	0,5352
Viabilidade (%) ^{ns}	91,67	95,83	93,75	97,92	93,75	0,09	0,9311

¹CR = consumo de ração; ²PO = produção de ovos; ³MO = massa de ovos; ⁴CA = conversão alimentar. CV = coeficiente de variação; ns = não significativo ($P > 0,05$).

Nascimento et al., (2014) avaliaram o efeito de diferentes fontes de vitamina D (colecalciferol, $25(\text{OH})\text{D}_3$ e $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), fornecendo 2000 UI de vitamina D_3 , sobre o desempenho e a qualidade de ovos de galinhas Hy-Line W36 com 80 semanas de idade. Os autores concluíram que o uso de D_3 e $25(\text{OH})\text{D}_3$ melhorou o desempenho e a qualidade dos ovos. Ainda explicaram que os distintos resultados obtidos com o uso de

1,25(OH)₂D₃, podem ser atribuídos a curta “meia-vida” deste metabólito (4-6 horas) no organismo, quando comparado com o 25(OH)D₃ (2-3 semanas). Desse modo, a sua utilização pode ter sido prejudicada devido a falta de reserva corporal.

É importante salientar que neste estudo, o 1,25(OH)₂D₃ foi de origem vegetal, proveniente da *Solanum glaucophyllum* (SG), apresentando propriedades farmacocinéticas diferentes da forma sintética dos metabólitos estudada por Frost e Roland (1990) e Nascimento et al., (2014), tais como a absorção e liberação mais lenta no organismo (Bachmann et al., 2013). Tal padrão de liberação pode ser atribuída ao fato de que o 1,25(OH)₂D₃ passa pela clivagem pelas glicosidases ou por modificações no Anel-A, exigindo-se assim populações bacterianas com enzimas ubíquas, que por sua vez, podem estar presentes em diferentes quantidades e segmentos do intestino, e somente após esse processo acontecer haverá liberação do metabólito no organismo (Zimmerman et al, 2015).

A mortalidade acumulada verificada foi de 5,42% (0,60% por semana), sendo que a viabilidade não foi influenciada pela suplementação de vitamina D₃ ativa nas rações. Soares (2013) relatou como normal a mortalidade de 0,30% por semana ou 12,0% acumulada, para codornas de seis a 48 semanas de idade, em lotes sem problemas sanitários, bem manejados e com nutrição adequada.

Quanto à qualidade dos ovos, houve influência dos níveis de 1,25(OH)₂D₃ no peso do ovo, no albúmen (g e %), na espessura da casca e no percentual de cinzas na casca (**Tabela 3**). Os ovos com maior peso e quantidade de albúmen foram provenientes de aves alimentadas com 0,25 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração.

Tabela 3. Qualidade de ovos de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Variável	µg 1,25-dihidroxitamina-D ₃ / kg de ração					CV %	P Valor
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00		
Peso do ovo (g)*	12,54ab	12,73 ^a	12,29b	12,58ab	12,46ab	2,01	0,0703
Peso do albúmen (g)*	7,64b	7,95 ^a	7,59b	7,78ab	7,66b	2,44	0,0186
Peso da casca (g) ^{ns}	1,00	1,03	0,98	1,04	1,00	3,51	0,0591
Peso da gema (g) ^{ns}	3,83	3,82	3,74	3,77	3,81	3,68	0,7730
Albúmen (%)*	61,00b	62,20 ^a	61,70ab	61,82ab	61,50ab	1,32	0,0402
Gema (%) ^{ns}	31,00	29,80	30,35	29,95	30,50	2,83	0,2207
Casca (%) ^{ns}	8,00	8,00	7,95	8,23	8,00	3,08	0,3284
EC ¹ (mm)*	0,1767ab	0,1717ab	0,1683b	0,1833a	0,1750ab	4,69	0,0464
GE ² (g/cm ³) ^{ns}	1,075	1,074	1,074	1,075	1,073	0,13	0,3516
MS ³ cascas (%) ^{ns}	97,64	97,67	97,70	97,72	97,59	0,14	0,4906
Cinzas cascas (%)*	90,26b	90,44ab	90,42ab	91,14a	90,93ab	0,55	0,0240

¹EC = espessura da casca; ²GE = gravidade específica; ³MS = matéria seca; CV = Coeficiente de variação; ns = não significativo (P>0,05). *Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo Teste Student-Newman-Keuls (SNK) no nível de 5% de probabilidade.

Nesse estudo, a adição de 0,75 μg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nas rações mostrou-se benéfica para a qualidade dos ovos, caracterizada pela maior espessura ($p < 0,05$) e percentual de cinzas nas cascas ($p < 0,05$). Com o aumento da idade, a ave de postura diminui progressivamente a habilidade do fígado em transformar a vitamina D_3 em $25(\text{OH})\text{D}_3$. A redução nas hidroxilações da vitamina D_3 pelo fígado ou rim, resulta em inadequada produção de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, que por sua vez, atua na absorção de cálcio e fósforo para a formação óssea e da casca (Carvalho e Fernandes, 2013). Possivelmente, as aves avaliadas apresentaram maior atividade da enzima 1α -hidroxilase renal, concentrações plasmáticas de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e de calbindinas duodenal e uterina, uma vez que poedeiras que produzem ovos com cascas normais apresentam maior atividade da referida enzima e constituintes mencionados (Salvador et al., 2009).

Fuller et al., (2005) avaliaram o Ca (2,5; 3,0 e 3,5%) e o $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (0,0; 5,0 e 10 g de folhas secas de *Solanum glaucophyllum* – SG/kg de ração) para poedeiras Leghorn White, no segundo ciclo de produção (70 a 90 semanas de idade). O fornecimento de SG não apresentou efeito sob a produção de ovos, entretanto, aumentou a resistência da casca e a gravidade específica dos ovos.

A gravidade específica dos ovos não foi influenciada pelo uso adicional de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. De modo semelhante, Safamehr et al., (2013) estudaram diferentes fontes e níveis de cálcio e colecalciferol (3000 e 5000 UI/kg) na dieta de poedeiras Hy-Line W36, e verificaram melhoria na espessura da casca dos ovos mediante o aumento da quantidade de vitamina D_3 , porém, sem efeitos sobre o desempenho das aves e gravidade específica dos ovos. Em geral, o valor de gravidade específica mais elevado está relacionado com uma casca de ovo mais espessa, característica desejável pelas indústrias processadoras de ovos.

O fornecimento de vitamina D_3 em níveis maiores do que os recomendados às aves promove o retardo no crescimento, eriçamento de penas, poliúria, desidratação e incoordenação de movimentos e debilidade de patas (Souza e Vieites, 2014). Não foram observados quaisquer sintomas de toxidez nas codornas japonesas alimentadas com as quantidades estudadas do metabólito $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

Os pesos e os respectivos percentuais relativos do coração, fígado, moela, pâncreas e comprimento intestinal das codornas japonesas não foram influenciados pela vitamina D_3 ativa (**Tabela 4**). Os resultados biométricos dos órgãos do aparelho digestório das codornas mostraram-se em conformidade com os verificados no desempenho zootécnico, indicando que não houve comprometimento fisiológico das aves. Segundo Artoni et al., (2014) faz-se de relevância considerar as alterações

morfológicas do sistema digestório, uma vez que essas apresentam profundo efeito no desempenho produtivo em função da influência no aproveitamento de todos nutrientes.

Os pesos e percentuais relativos dos fígados não apresentaram alteração com uso do 1,25(OH)₂D₃. Tal resultado torna-se evidente, uma vez que o diferencial do metabólito estudado refere-se ao fato de não precisar passar pelo fígado, evitando-se assim, sobrecarregar esse órgão, e ainda os gastos energéticos, com a metabolização da vitamina, permitindo o aumento da eficiência no organismo. Kapica e Puzio (2004) relataram que os fígados de frangos de corte que receberam vitamina D₃ ativa e fitase apresentaram peso relativo menor quando comparados aos provenientes de aves alimentadas com ração padrão (controle).

Tabela 4. Biometria de órgãos do aparelho digestório de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Variável	µg 1,25-dihidroxitamina-D ₃ / kg de ração					CV %	P Valor
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00		
Peso vivo (g) ^{ns}	221,66	212,91	212,63	221,74	215,39	5,87	0,5601
CI ¹ (cm) ^{ns}	57,15	57,75	56,42	57,82	58,25	9,00	0,9767
Coração (g) ^{ns}	2,04	1,88	1,95	2,00	1,83	14,21	0,6799
Fígado (g) ^{ns}	5,36	5,02	5,76	5,88	5,71	15,83	0,4473
Moela (g) ^{ns}	3,34	3,46	3,57	3,64	3,48	12,67	0,8072
Pâncreas (g) ^{ns}	0,58	0,58	0,59	0,64	0,57	30,36	0,9716
Coração (%) ^{ns}	0,92	0,89	0,93	0,90	0,85	13,90	0,7803
Fígado (%) ^{ns}	2,42	2,35	2,68	2,66	2,67	14,93	0,1201
Moela (%) ^{ns}	1,51	1,64	1,67	1,65	1,62	13,85	0,7437
Pâncreas (%) ^{ns}	0,26	0,27	0,27	0,29	0,27	30,29	0,9887

¹CI = comprimento intestinal; CV = Coeficiente de variação; ns = não significativo (P>0,05).

Na avaliação das excretas, a matéria mineral (cinzas) não se alterou mediante o suplemento de até 1,0 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração (**Tabela 5**). Vieites et al., (2015) estudaram o fornecimento adicional de Solanum malacoxylon – SM (0,0; 2,5 e 5,0 g de SM/kg ração) para frangos de corte até 21 dias de idade. De maneira semelhante a observada nessa avaliação, os autores verificaram que a inclusão de SM não afetou (p>0,05) os teores de cálcio, magnésio, potássio e sódio nas excretas. Entretanto, somente o teor de fósforo foi alterado, de modo que o maior valor excretado foi verificado em 5,0 g de SM/kg de ração, resultado talvez decorrente da tentativa das aves na manutenção da homeostase.

Tabela 5. Teores de cinzas e matéria seca (MS) nas excretas de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Variável	µg 1,25-dihidroxitamina D ₃ / kg de ração					CV %	P Valor
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00		
Cinzas (%) ^{ns}	24,59	24,65	25,92	24,93	24,80	7,69	0,8598
MS (%) [*]	28,27ab	28,69a	26,58b	28,53 ^a	27,22ab	3,34	0,0237

CV = Coeficiente de variação; ns = não significativo (P>0,05). *Médias seguidas de mesma letra, na linha, não diferem entre si, pelo Teste Student-Newman-Keuls (SNK) no nível de 5% de probabilidade.

A matéria seca excretada foi maior no grupo de aves que receberam 0,25 µg (28,69%) e 0,75 µg (28,53%) de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração, respectivamente. Os valores encontrados para as variáveis das excretas estão em conformidade com os relatados por Costa et al. (2010), para codornas japonesas de 45 a 57 semanas de idade.

Conclusões

Os níveis de suplementação de 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal na ração para codornas japonesas em postura de 36 a 45 semanas de idade, não afetou a produtividade, as excretas e a biometria de órgãos do aparelho digestório. No entanto, verificou-se melhoria na qualidade dos ovos, caracterizada pela maior espessura e percentual das cinzas nas cascas com a adição de 0,75 µg desta vitamina.

Referências

ARTONI, S.M.B.; NAKAGHI, L.S.; BORGES, L.L. et al. Sistema digestório das aves. In: SAKOMURA, N.K.; SILVA, J.H.V.; COSTA, F.G.P. et al. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal-SP: FUNEP, 2014. 678p.

BACHMANN, H.; OFFORD-CAVIN, E.; PHOTHIRATH, P. et al. 1,25-dihydroxyvitamin D₃-glycoside of herbal origin exhibits delayed release pharmacokinetics when compared to its synthetic counterpart. **Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v.136, p.333-336, 2013.

CARVALHO, L.S.S.; FERNANDES, E.A. Formação da casca de ovos de reprodutoras e poedeiras comerciais. **Medicina Veterinária**, v.7, n.1, p.25-44, 2013.

COSTA, F.G.; OLIVEIRA, C.F.S.; DOURADO, L.R.B. et al. Níveis de cálcio em dietas para poedeiras semipesadas após o pico de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.4, p.624-628, 2008.

COSTA, C.H.R.; BARRETO, S.L.T.; UMIGI, R.T. et al. Balanço de cálcio e fósforo e estudo dos níveis desses minerais em dietas para codornas japonesas (45 a 57 semanas de idade). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.8, p.1748-1755, 2010.

FÉLIX, A.P.; MAIORKA, A.; SORBARA, J.O. Níveis vitamínicos para frangos de corte. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p.619-626, 2009.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência & Agrotecnologia**, v.38, n.2, p.109-112, 2014.

FROST, T.J.; ROLAND, D.A. Influence of vitamin D₃, 1 α -hydroxyvitamin D₃, and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on eggshell quality, tibia strength, and various production parameters in commercial laying hens. **Poultry Science**, v.69, p.2008-2016, 1990.

FULLER, J.; GOFF, J.; BEHREND, B. et al. The effect of feeding *Solanum glaucophyllum* on eggshell strength in second-cycle White Leghorn hens. In: Abstracts of the Annual Meeting of the Poultry Science Association, Auburn University, Auburn, Alabama, July 31 - August 3, 2005. **Poultry Science**, v. 84, n.1, p.4, 2005. (Only Abstract Available).

GARCIA, A.F.Q.M.; MURAKAMI, A.E.; MASSUDA, E.M. et al. Milheto na alimentação de codornas japonesas. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.1, p.150-159, 2012.

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

GUIMARÃES, M.C.C.; FURTADO, D.A.; NASCIMENTO, J.W.B. et al. Efeito da estação do ano sobre o desempenho produtivo de codornas no semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, n.2, p.231-237, 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Produção da pecuária municipal 2014. **Produção Pecuária Municipal**, Rio de Janeiro, v.42, p.1-39, 2014.

KAPICA, M.; PUZIO, I. Influence of dietary phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol supplementation on the activity of digestive enzymes in chickens. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v.48, p.519-522, 2004.

MOJICA, C.; BACHMANN, H.; La era moderna de la nutrición de la vitamina D. **WATTagnet**, 27 de agosto, 2012. Disponível em: <<http://www.wattagnet.com/articles/13670-la-era-moderna-de-la-nutricion-de-la-vitamina-d>> Acessado em 14 fev. 2016 às 09:42:00.

NASCIMENTO, G.R.; MURAKAMI, A.E.; GUERRA, A.F.Q.M. et al. Effect of vitamin D sources and calcium levels in the diet of layers in the second laying cycle. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.16, n.2, p.37-42, 2014.

OIDE, M.M. Ambiência e sistemas de climatização. In: V Simpósio Internacional, IV Congresso Brasileiro de Coturnicultura. **Anais**. São Carlos-SP: Suprema Gráfica, 2013. p.33-46.

RAMBECK, W.A.; BACHMANN, H.; BOLAND, R. Las tres diferentes formas de la vitamina D en nutrición animal. **WATTagnet**, 25 de novembro, 2015. Disponível em: <<http://www.wattagnet.com/articles/25076-las-tres-diferentes-formas-de-la-vitamina-d-en-nutricin-animal>> Acessado em 14 fev. 2016 às 09:54:00.

REZENDE, M.J.M.; FLAUZINA, L.P.; MCMANUS, C. et al. Desenvolvimento produtivo e biometria das vísceras de codornas francesas alimentadas com diferentes níveis de energia metabolizável e proteína bruta. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.26, n.3, p.353-358, 2004.

ROSA, G.A.; SORBELLO, L.A.; DITTRICH, R.L. Perfil hematológico de codornas japonesas (*Coturnix japonica*) sob estresse térmico. **Ciência Rural**, v.41, n.9, p.1065-1610, 2011.

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

RUTZ, F. Absorção de vitaminas. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária: aplicada a frangos de corte**. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2008. p.149-165.

SAFAMEHR, A.; HEDATYATI, S.; SHAHIR, M.H. The effects of dietary calcium sources and vitamin D₃ on egg quality and performance in laying hens. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, v.3, n.1, p.167-175, 2013.

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

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 3.ed. Belo Horizonte-MG: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2010. 264p.

SEPÚLVEDA, C.A.G.; ROSALES, R.B. Mecanismos de acción de la vitamina D₃, 1- α -hidroxicolecalciferol (1- α -OH-D₃) y 25-hidroxicolecalciferol (25-OH-D₃) en gallinas de postura comercial. **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v.9, n.1, p.114-127, 2014.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 235p.

SOARES, N.M. Diagnóstico das causas de mortalidade em codornas japonesas. In: V Simpósio Internacional, IV Congresso Brasileiro de Coturnicultura. **Anais**. São Carlos-SP: Suprema Gráfica, 2013. p.59-64.

SOUZA, C.S.; VIEITES, F.M. Vitamina D₃ e seus metabólitos para frangos de corte. **Archivos de Zootecnia**, v.63(R), p.11-24, 2014.

SOUZA, C.S.; VIEITES, F.M.; VASCONCELLOS, C.H.F. et al. Suplemento de 1,25 dihidroxicolecalciferol e redução de cálcio e fósforo disponível para frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.2, p.519-525, 2013.

VIEITES, F.M.; ARAÚJO, G.M.; VALE, P.A.C.B. et al. Balanço de minerais e desempenho em frangos de corte aos 21 dias de idade alimentados com rações contendo *Solanum malacoxylon*. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.16, n.3, p.535-543, 2015.

ZIMMERMAN, D.R.; KOSZEWSKI, N.J.; HOY, D.A.; GOFF, J.P.; HORST, R.L. Targeted delivery of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ to colon tissue and identification of a major 1,25-dihydroxyvitamin D₃ glycoside from *Solanum glaucophyllum* plant leaves. **The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v.148, p.318-325, 2015.

Capítulo 2

**Características ósseas de codornas japonesas em postura suplementadas com
1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal**

Características ósseas de codornas japonesas em postura suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Resumo: Objetivou-se avaliar as características ósseas de codornas japonesas alimentadas com ração suplementada com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo (1,25(OH)₂D₃) de origem vegetal. Foi utilizado delineamento em blocos casualizados, com cinco tratamentos (0,0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração), seis repetições e seis aves por unidade experimental. Verificou-se que a composição orgânica (proteínas colagenosas e totais) e a resistência à quebra (RQ) dos ossos de codornas japonesas com 47 semanas de idade alteraram-se com o 1,25(OH)₂D₃ adicional (p<0,05). A RQ das tíbias direitas das aves que receberam ração suplementada com 0,50 µg de 1,25(OH)₂D₃ foi 20% maior quando comparada com os demais tratamentos. Pode-se inferir que não houve modificação da qualidade óssea das aves, uma vez que a composição mineral – cinzas, cálcio (Ca), fósforo (P), relação Ca:P, a densidade óssea e os teores de proteínas não colagenosas não se modificaram.

Palavras-chave: cinzas, colágeno, colecalciferol, Índice Seedor, matriz extracelular, resistência à quebra

Bone characteristics of Japanese laying quails supplemented with 1,25-dihydroxyvitamin-D₃-glycoside of plant origin

Abstract: The objective was to evaluate the bone characteristics of Japanese laying quails supplemented with 1,25-dihydroxyvitamin D₃-glycoside (1,25(OH)₂D₃) of plant origin in feed. It was used a randomized block design, with five treatments (0.0; 0.25; 0.50; 0.75 and 1.00 µg 1,25(OH)₂D₃/ kg diet), six replicates and six birds each. It was found that the organic composition (collagenous and total proteins) and bone strength (BS) of the bones of Japanese laying quails with 47 weeks of age modified with 1,25(OH)₂D₃ additional (p<0.05). The BS of the right tibia of the birds fed with dietary supplementation with 0.50 µg of 1,25(OH)₂D₃ was 20% higher when compared with the other treatments. It may be point out that there was no change in bone quality of the birds, since the mineral composition – ash, calcium (Ca), phosphorus (P), Ca:P ratio, the bone density and the levels of non collagenous proteins not modified.

Keywords: ash, breaking strength, cholecalciferol, collagen, extracellular matrix, Seedor Index

Introdução

A vitamina D regula a fisiologia osteomineral, em especial o metabolismo do cálcio (Ca) e fósforo (P). Ela é responsável por estimular a reabsorção destes minerais nos ossos e a sua absorção a nível intestinal (Carvalho e Fernandes, 2013; Castro, 2011).

Existem alguns compostos, com atividade metabólica de vitamina D. Dentre estes, os que apresentam maior atividade referem-se aos de origem animal, colecalciferol (vitamina D₃), seguidos pelo ergocalciferol (vitamina D₂), de origem vegetal (Peixoto et al., 2012).

Os metabólitos hidroxilados da vitamina D₃ já foram identificados em inúmeras plantas, principalmente as pertencentes a família Solanaceae (Jälpelt e Jakobsen, 2013). A *Solanum glaucophyllum* (SG) apresenta em sua composição 54,3% de carboidratos, 24,9% de proteínas, 4,1% de água, 17,1% de minerais (Bachmann et al., 2013) e glicosídeos de 1,25(OH)₂D₃ (8,6 a 100 mg/g de folhas secas). A distribuição molecular dos radicais glicosilados na SG é de uma a 12 unidades de hexoses por aglicona (European Food Safety Authority – EFSA, 2015).

As formas D₂ e D₃ apresentam atividades biológicas essencialmente idênticas, contudo, espécies aviárias utilizam mais eficientemente a D₃. Presumivelmente, tal discriminação seja resultado da ligação reduzida dos metabólitos da vitamina D₂ às proteínas ligadoras da vitamina D no sangue, levando a depuração mais rápida dos metabólitos da D₂ no plasma (Bar, 2008; Souza e Vieites, 2014). A vitamina D₃ é cerca de 30 a 40 vezes mais potente que a D₂ para aves (Pizauro Jr. et al., 2002).

A estrutura química entre as duas formas da vitamina D diferem apenas quanto ao tamanho das cadeias e formam-se no organismo animal mediante ação da radiação ultravioleta sobre os esteróides, ergosteróis e 7-dehidrocolesterol (Guerra et al., 2014). Para ser metabolicamente ativa, a vitamina D₃ sofre transformações que ocorrem no fígado e rins, através de reações de adição de grupos de hidroxilas na molécula; produzindo o 25-hidroxicolecalciferol – 25(OH)D₃ e o 1,25 dihidroxicolecalciferol – 1,25(OH)₂D₃, respectivamente (Hewison, 2011). De maneira geral, as bioatividades das formas da vitamina D seguem a sequência: 1,25(OH)₂D₃ > 1α(OH)D₃ > 25(OH)D₃ > D₃ > D₂ (Han et al., 2012).

Em criações comerciais, as aves de postura, permanecem em sistema de confinamento, portanto a conversão de 7-dehidrocolesterol não assegura fonte suficiente de colecalciferol para as poedeiras. Assim, a suplementação de vitamina D₃ nas rações torna-se imprescindível (Rodrigues et al., 2005). Outro fato, que deve ser considerado

refere-se à progressiva diminuição na habilidade do fígado em hidroxilar a vitamina D₃ em 25(OH)D₃ com o avançar da idade (Carvalho e Fernandes, 2013), resultando em inadequada produção de 1,25(OH)₂D₃.

Nos ossos, o 1,25(OH)₂D₃ atua no desenvolvimento da placa de crescimento, formação, reabsorção e remodelagem. Ainda, age em sinergismo com o paratormônio, mobilizando Ca e P, mediante indução de diferenciação de células precursoras em osteoclastos; nos osteoblastos maduros, aumentando a expressão da fosfatase alcalina, e de proteínas não colagenosas – osteocalcina e osteopontina (Moreira et al., 2004; Menezes Filho et al., 2008; Dantas et al., 2009; Marques et al., 2010) e na inibição da síntese de colágeno tipo I (Castro, 2011).

Desta forma, objetivou-se avaliar a resistência à quebra e a composição orgânica e mineral de tíbias e fêmures de codornas japonesas em postura alimentadas com rações contendo suplemento de 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal.

Material e Métodos

As informações acerca do delineamento estatístico adotado, descrição dos tratamentos, número de animais, rações e demais condições experimentais, foram devidamente descritas no **Capítulo 1**.

Na 47^a. semana de idade, uma ave/repetição foi pesada, sacrificada por sangria e tiveram as tíbias (30 pares) e os fêmures (30 pares) removidos. Os ossos foram limpos de todo tecido aderente, identificados e congelados (-20°C). As análises da composição orgânica e mineral dos ossos foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Animal (LBA), do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (DBB) da UFV.

Nos ossos in natura, procedeu-se a retirada de todo tecido aderente, com auxílio de tesouras e pinças, pesagem em balança analítica ($\pm 0,0001g$), bem como as mensurações dos diâmetros (horizontal e vertical) e do comprimento (mm) usando paquímetro digital (Mitutoyo[®] 0-150mm, precisão 0,001mm). Dividindo-se o peso do osso (mg) pelo seu comprimento (mm), foi calculado o Índice de Seedor (Seedor et al., 1991).

As tíbias e os fêmures direitos foram usados na determinação da resistência à quebra, sendo descongelados até a temperatura ambiente e, posteriormente, submetidos a um ensaio de flexão, com o uso de uma máquina universal de ensaios mecânicos Contenco, capacidade de 10 T (UMC 100[®]). Todos os ossos foram testados na mesma posição, com as suas extremidades apoiadas em dois suportes apropriadamente afastados de acordo com o comprimento, sendo a carga aplicada no centro (região da

diáfise do osso), seguindo-se especificações da Sociedade Americana de Engenharia Agrícola (ASAE S459, 1998). A distância entre os apoios (vão) utilizada foi de 2,20 cm para os fêmures, 2,53 cm para os tibiotarsos, e a velocidade foi de 2,00 mm/min. O momento da ruptura do osso foi registrado em quilograma força (kgf).

Após a obtenção da resistência, os ossos foram cortados longitudinalmente, sendo removida a medula óssea com jatos de água destilada. Em seguida, foram desengordurados com éter de petróleo, em aparelho Soxhlet, por quatro horas, para a determinação das concentrações de proteínas colagenosas (PC) e não colagenosas (PNC), conforme proposto por Barbosa et al., (2010). Os ossos foram desmineralizados com solução de sal dissódico de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) para extração de PNC. O fim da extração foi confirmado com ácido oxálico, que permitiu identificar a desmineralização completa. As PNC foram quantificadas pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina sérica bovina como padrão.

Depois de desengordurados e desmineralizados, os ossos foram lavados exaustivamente com água destilada e deionizada para retirada do EDTA e então usados para determinação de PC, utilizando o método de Kjeldahl para estimar o nitrogênio total (NT). O teor de PC foi obtido, multiplicando-se o NT pelo fator 6,25 (Silva e Queiroz, 2006). Os percentuais das proteínas ósseas foram calculados em relação ao peso seco do osso seco e desengordurado.

Para a determinação do conteúdo mineral, as tíbias e os fêmures esquerdos foram descongelados e submetidos à estufa 105°C por seis horas, e em seguida, desengordurados com éter de petróleo, em aparelho Soxhlet, por quatro horas, sendo então obtidos os pesos secos e desengordurados dos ossos. Posteriormente, foram calcinados em mufla a 600°C, por um período de seis horas, para mensuração dos teores de cinzas e posterior preparo de solução mineral (via seca), seguindo-se a metodologia de Silva e Queiroz (2006).

O teor de Ca nas cinzas dos ossos foi determinado por espectrometria de absorção atômica, e o de P por colorimetria. Os valores percentuais dos minerais foram expressos em relação ao peso do osso seco e desengordurado (Barbosa et al., 2010). A relação cálcio:fósforo (Ca:P) foi obtida dividindo-se a percentagem de Ca pela de P nas cinzas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e regressão, considerando o nível de 5,0% de probabilidade. Quando a regressão não foi significativa, optou-se pela aplicação de teste de comparação de médias (Student-Newman-Keuls ou teste t), seguindo as recomendações de Sampaio (2010). As análises

foram realizadas utilizando o software SISVAR, versão 5.6 (Build 86), de análises estatísticas e planejamento de experimento (Ferreira, 2014).

Resultados e Discussão

Os pesos in natura, comprimentos, diâmetros horizontais e Índice de Seedor das tíbias e fêmures esquerdos das codornas japonesas não foram influenciados pela suplementação com 1,25-dihidroxitamina-D₃ (**Tabela 1**). Possivelmente as aves foram capazes de metabolizar suficiente 1,25(OH)₂D₃ a partir do colecalciferol dietético, e/ou utilizar a quantidade adicional do referido metabólito na manutenção óssea.

Tabela 1. Peso in natura, comprimento, diâmetros, Índice Seedor e resistência à quebra dos ossos de codornas japonesas alimentadas com ração contendo 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Variável	Osso	µg 1,25-dihidroxitamina-D ₃ / kg de ração					CV (%)
		0,00	0,25	0,50	0,75	1,00	
Tíbias							
Peso da ave (g) ^{ns}	-	221,16	222,70	217,32	216,71	218,77	5,31
Peso in natura (g) ^{ns}	TD	0,83	0,84	0,79	0,84	0,78	13,03
Peso in natura (g) ^{ns}	TE	0,80	0,81	0,77	0,77	0,78	13,87
Comprimento (mm) ^{ns}	TD	51,20	50,19	49,84	51,24	50,14	3,13
Comprimento (mm) ^{ns}	TE	50,91	50,48	49,44	49,45	50,02	4,45
Índice Seedor ^{ns}	TD	15,88	16,64	15,73	16,51	15,61	11,34
Índice Seedor ^{ns}	TE	15,78	16,04	16,00	15,83	16,01	10,20
Diâmetro horizontal (mm) ^{ns}	TD	2,68	2,82	2,65	2,77	2,69	8,03
Diâmetro horizontal (mm) ^{ns}	TE	2,77	2,78	2,65	2,85	2,75	5,17
Diâmetro vertical (mm) ^{ns}	TD	2,74	2,93	2,68	2,82	2,69	6,42
Diâmetro vertical (mm) ^{ns}	TE	2,91	2,92	2,77	3,05	2,94	9,53
Resistência à quebra (kgf) ^{1*}	TD	3,33 ab	3,50 ab	4,50 a	2,75 b	3,58 ab	30,73
Fêmures							
Peso in natura (g) ^{ns}	FD	0,74	0,83	0,75	0,63	0,77	20,85
Peso in natura (g) ^{ns}	FE	0,68	0,80	0,79	0,74	0,71	11,53
Comprimento (mm) ^{ns}	FD	41,46	41,59	40,54	41,42	41,32	2,67
Comprimento (mm) ^{ns}	FE	41,04	41,16	41,03	41,50	41,59	3,69
Índice Seedor ^{ns}	FD	17,81	19,84	18,45	18,31	18,75	10,32
Índice Seedor ^{ns}	FE	16,51	19,42	19,33	17,91	17,09	10,03
Diâmetro horizontal (mm) ^{ns}	FD	3,04	3,24	3,00	3,17	3,04	5,29
Diâmetro horizontal (mm) ^{ns}	FE	3,04	3,15	2,94	3,12	2,91	4,79
Diâmetro vertical (mm)*	FD	2,93 b	3,14 ab	3,01 b	3,25 a	2,94 b	5,20
Diâmetro vertical (mm) *	FE	3,12 ab	3,19 ab	3,09 ab	3,33 a	2,98 b	6,37
Resistência à quebra (kgf) ^{ns}	FD	2,33	3,17	3,80	2,20	3,40	33,34

TD = tíbia direita; TE = tíbia esquerda; FD = fêmur direito; FE = fêmur esquerdo; CV = coeficiente de variação; ns = não significativo (p>0,05). ^{1*}Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo Teste t (p>0,05). *Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo Teste Student-Newman-Keuls – SNK (p>0,05).

Os diâmetros verticais dos fêmures (direitos e esquerdos) foram alterados com a adição da vitamina D₃ ativa (p<0,05), sendo os maiores valores observados em 0,75 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração. A resistência à quebra (RQ) das tíbias direitas foi

influenciada com o acréscimo de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nas rações ($p < 0,05$). O fornecimento de $0,50 \mu\text{g}$ de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mostrou-se a melhor opção, pois aumentou em mais de 20% a RQ, em relação aos demais tratamentos. Frost e Roland (1990) também verificaram aumento na RQ de tíbias de poedeiras Hy-line W36, com 65 semanas de idade, alimentadas com suplemento de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (0,0, 0,5 e $1,0 \mu\text{g}$) nas rações.

Os resultados para RQ observados neste estudo estão de acordo com os descritos por Bachmann et al., (2013), que estudaram a adição de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ proveniente de folhas secas de *Solanum glaucophyllum* – SG ($10 \mu\text{g}$), de extratos purificados ($9,50 \mu\text{g}$ e $37,90 \mu\text{g}$ de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), e do metabólito de origem sintética ($5,0 \mu\text{g}$ de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) nas rações para frangos de corte. Os pesquisadores relataram que a resistência à ruptura, bem como a rigidez das tíbias, foram maiores para os tratamentos com adição do metabólito, quando comparado ao controle. As folhas de SG apresentaram valores semelhantes àqueles com uso de vitamina D_3 sintética.

O Índice de Seedor (IS) é utilizado como indicativo da densidade óssea, de modo que, quanto maior esse índice, maior a densidade da peça e vice-versa. Não foram constatadas quaisquer alterações nos valores de IS dos ossos estudados, tais resultados indicam a integridade no preenchimento da matriz orgânica óssea. Rivera et al., (2014) estudaram diferentes combinações de níveis de Ca e P e suplemento de vitamina D_3 e $25(\text{OH})\text{D}_3$ para poedeiras leves de 24 a 40 semanas de idade. Os autores relataram maior densitometria radiográfica nas tíbias das aves alimentadas com 3,8% de Ca, 0,36% P e adição de $25(\text{OH})\text{D}_3$, como fonte isolada da vitamina D.

Os pesos secos e desengordurados (PSD), bem como os valores de proteínas não colagenosas (PNC) dos ossos avaliados não foram alterados em função do incremento dietético de vitamina D_3 ativa (**Tabela 2**). Ao contrário do observado para a fração insolúvel em EDTA (PC) e quantidade de proteínas ósseas totais – PT ($p < 0,05$).

Nas tíbias, os menores percentuais de PC e PT foram observados no fornecimento de $0,50 \mu\text{g}$ de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3/\text{kg}$ de ração, de modo similar ao observado nos fêmures.

A osteocalcina representa 10 a 20% do total das PNC, e sua síntese é aumentada pelo $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Avolio et al., 2008; Araújo et al., 2012). Entretanto, isso não foi verificado, indicando que não houve desequilíbrio metabólico a ponto de interferir nessa variável nas condições avaliadas. As PNC contribuem para uma variedade de funções no osso, tais como a estabilização da matriz, calcificação e outras atividades regulatórias do metabolismo. As Gla-proteínas, que compõem parte das PNC podem inibir a mineralização óssea ou estimular a ação dos osteoclastos (Araújo et al., 2011).

Tabela 2. Peso seco e desengordurado, percentuais de proteínas não colagenosas, colagenosas e totais nos ossos codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Variável	Osso	µg 1,25-dihidroxitamina-D ₃ / kg de ração					CV (%)
		0,00	0,25	0,50	0,75	1,00	
Tíbias							
PSD ¹ (g) ^{ns}	TD	0,42	0,46	0,49	0,41	0,44	17,24
PNC ² (%) ^{ns}	TD	0,53	0,45	0,53	0,57	0,48	14,27
PC ³ (%) [*]	TD	24,02 a	22,51 ab	20,37 b	22,81 ab	22,19 ab	8,94
PT ⁴ (%) [*]	TD	24,55 a	22,96 ab	20,90 b	23,38 ab	22,67 ab	8,71
Fêmures							
PSD ¹ (g) ^{ns}	FD	0,36	0,41	0,45	0,37	0,42	16,86
PNC ² (%) ^{ns}	FD	0,61	0,52	0,48	0,59	0,51	23,70
PC ³ (%) [*]	FD	25,98 a	22,53 ab	19,39 b	24,93 a	24,09 a	11,29
PT ⁴ (%) [*]	FD	26,59 a	23,05 ab	19,87 b	25,52 a	24,60 a	11,35

¹PSD = peso seco e desengordurado; ²PNC = proteínas não colagenosas; ³PC = proteínas colagenosas; ⁴PT = proteínas totais; TD = tíbia direita; FD = fêmur direito; CV = coeficiente de variação; ns = não significativo (p>0,05). *Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo Teste Student-Newman-Keuls – SNK (p>0,05).

No que se refere ao conteúdo mineral, as quantidades de Ca, P e a relação Ca:P nos ossos das codornas japonesas não foram influenciados pelo suplemento de 1,25(OH)₂D₃ (**Tabela 3**). Os resultados da composição inorgânica corroboram com os observados para PNC, denotando não modificação da matriz óssea.

Tabela 3. Conteúdo mineral nos ossos de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Variável	Osso	µg 1,25-dihidroxitamina-D ₃ / kg de ração					CV (%)
		0,00	0,25	0,50	0,75	1,00	
Tíbias							
PSD ¹ (g) ^{ns}	TE	0,42	0,44	0,44	0,39	0,44	14,75
Cinzas (g) ^{ns}	TE	0,1794	0,1869	0,1734	0,1666	0,1805	14,14
Cinzas (%) ^{ns}	TE	43,29	42,13	39,42	42,62	41,63	6,87
Cálcio (%) ^{ns}	TE	33,30	37,98	34,98	34,66	29,44	15,73
Fósforo (%) ^{ns}	TE	14,29	15,34	14,78	14,90	12,22	12,83
Ca:P ^{ns}	TE	2,33	2,47	2,34	2,33	2,40	7,54
Fêmures							
PSD ¹ (g) ^{ns}	FE	0,34	0,38	0,45	0,34	0,39	23,18
Cinzas (g) ^{ns}	FE	0,1504	0,1536	0,1710	0,1406	0,1500	16,85
Cinzas (%) ^{ns}	FE	43,71	42,40	38,26	42,02	39,57	9,79

¹PSD = peso seco e desengordurado; TE = tíbia esquerda; FE = fêmur esquerdo; CV = coeficiente de variação; ns = não significativo (p>0,05). *Médias seguidas de mesma letra na linha, não diferem entre si, pelo Teste Student-Newman-Keuls – SNK (p>0,05).

As relações Ca:P observadas nesse experimento foram próximas da relatada por Thorp e Waddington (1997) e Field (2000) como ótima para normal mineralização dos ossos, de 2:1. De acordo com Han et al., (2015) o metabolismo da vitamina D influencia-se pelas quantidades de Ca e P nas dietas. Sheikhlar e Navid (2009) investigaram as características ósseas de codornas de corte até três semanas de idade,

que receberam dietas com adição de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e deficientes em Ca (0,71%) e P_{disp} (0,37%) e constataram que 6,5 μg do metabólito aumentou a concentração de cinzas e Ca nos ossos das aves.

Embora os valores de Ca (2,92%) e P_{disp} (0,30%) ofertados nas rações estarem em conformidade com o preconizado para o atendimento das exigências dessas aves, não foi verificada alteração nos valores das cinzas e minerais, em função do fornecimento adicional do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Desse modo, pode-se inferir que o máximo valor suplementar (1,0 μg) não foi suficiente para promover maior retenção mineral.

Conclusões

A composição orgânica (PC e PT) e a resistência à quebra dos ossos de codornas japonesas com 47 semanas de idade alteraram-se com o suplemento de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glicosídeo de origem vegetal. Entretanto, não houve modificação da qualidade óssea das aves, uma vez que a composição mineral (cinzas, Ca e P, Ca:P), a densidade (IS) e as frações solúveis em EDTA (PNC) não se modificaram.

Referências

AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS. **ASAE Standard S459. Shear and three-point bending test of animal bone**. Saint Joseph: ASAE, p. 581-583, 1998.

ARAÚJO, G.M.; VIEITES, F.M.; BARBOSA, A.A. et al. Variação aniônica da dieta sobre características ósseas de frangos de corte: resistência à quebra, composição orgânica e mineral. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.4, p.954-961, 2011.

ARAÚJO, G.M.; VIEITES, F.M.; SOUZA, C.S. Importância do desenvolvimento ósseo na avicultura. **Archivos de Zootecnia**, v.61(R), p.79-89, 2012.

AVOLIO, G.; BRANDÃO, C.M.A.; OLIVEIRA, J.X. et al. O papel da vitamina D_3 e da osteocalcina no metabolismo ósseo: uma análise necessária para se otimizar a osseointegração. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, v.26, n.3, p.347-350, 2008.

BACHMANN, H.; OFFORD-CAVIN, E.; PHOTHIRATH, P. et al. 1,25-dihydroxyvitamin D_3 -glycoside of herbal origin exhibits delayed release pharmacokinetics when compared to its synthetic counterpart. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v.136, p. 333-336, 2013.

BAR, A. Calcium homeostasis and vitamin D metabolism and expression in strongly calcifying laying birds. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v.151, p.477-490, 2008.

- BARBOSA, A.A.; MORAES, G.H.K.; TORRES, R.A. et al. Avaliação da qualidade óssea mediante parâmetros morfométricos, bioquímicos e biomecânicos em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.772-778, 2010.
- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantitative of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, n.2, p.248-254, 1976.
- CARVALHO, L.S.S.; FERNANDES, E.A. Formação da casca de ovos de reprodutoras e poedeiras comerciais. **Medicina Veterinária**, v.7, n.1, p.25-44, 2013.
- CASTRO, L.C.G. O sistema endocrinológico vitamina D. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.55, n.8, p.566-575, 2011.
- DANTAS, A.T.; DUARTE, A.L.B.; MARQUES, C.D.L. A vitamina D na artrite reumatoide e no lupus eritematoso. **Temas de Reumatologia Clínica**, v.10, n.2, p.53-59, 2009.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY – EFSA. Scientific Opinion on the safety of *Solanum glaucophyllum* standardised leaves as feed material. **EFSA Journal**, v.13, n.1, p.3967, 2015.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência & Agrotecnologia**, v.38, n.2, p.109-112, 2014.
- FIELD, R.A. Ash and calcium as measures of bone in meat and bone mixtures. **Meat Science**, v.55, n.3, p.255-264, 2000.
- FROST, T.J.; ROLAND, D.A. Influence of vitamin D₃, 1 α -hydroxyvitamin D₃, and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on eggshell quality, tibia strength, and various production parameters in commercial laying hens. **Poultry Science**, v.69, p.2008-2016, 1990.
- GUERRA, A.F.Q.G.; MURAKAMI, A.E.; SANTOS, T.C. et al. Utilização da vitamina D₃ e seus metabólitos na alimentação de frangos de corte sobre parâmetros imunológicos e morfometria intestinal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, n.5, p.477-484, 2014.
- HAN, J.; LIU, Y.; YAO, J. et al. Dietary calcium levels reduce the efficacy of one alpha-hydroxycholecalciferol in phosphorus-deficient diets of broilers. **Journal of Poultry Science**, v.49, p.34-38, 2012.
- HAN, J.C.; MA, K.; WANG, J.G.; CHEN, G.H.; ZHANG, J.L.; QU, H.X.; YAN, Y.F.; CHENG, Y.H. Effects of non-phytate phosphorus and 1 α -Hydroxycholecalciferol on growth performance, bone mineralization, and carcass traits of broiler chickens. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v.17, n.4, p.503-510, 2015.
- HEWISON, M. Vitamin D and immune function: an overview. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.71, p.50-61, 2011.
- JÄPELT, R.B.; JAKOBSEN, J. Vitamin D in plants: a review of occurrence, analysis, and biosynthesis. **Frontiers in Plant Science**, v.4, 2013. DOI: 10.3389/fpls.2013.00136.

- MARQUES, C.D.L.; DANTAS, A.T.; FRAGOSO, T.S. et al. A importância dos níveis de vitamina D nas doenças autoimunes. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.50, n.1, p.67-80, 2010.
- MENEZES FILHO, H.C.; SETIAN, N.; DAMIANI, D. Raquitismo e metabolismo ósseo. **Pediatria**, v.30, n.1, p.41-55, 2008.
- MOREIRA, R.O.; DUARTE, M.L.F.; FARIAS, M.L.F. Distúrbios do eixo cálcio-PTH-vitamina D nas doenças hepáticas crônicas. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.48, n.4, p.443-450, 2004.
- PEIXOTO, P.V.; KLEM, M.A.P.; FRANÇA, T.N. et al. Hipervitaminose D em animais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.7, p.573-594, 2012.
- PIZAURO JUNIOR, J.M.; CIANCAGLINI, P.; MACARI, M. Discondroplasia tibial: mecanismos de lesão e controle. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.3, p.169-185, 2002.
- RIVERA, D.F.R.; BERTECHINI, A.G.; OLIVEIRA, T.F.B. et al. Combinations of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol as vitamin D sources in white laying hen feed diets. **Ciência & Agrotecnologia**, v.38, n.6, p.573-580, 2014.
- RODRIGUES, E.A.; JUNQUEIRA, O.M.; CANCHERINI, L.C. et al. Desempenho e qualidade da casca para poedeiras recebendo vitamina D nas rações pré-postura e postura. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.27, n.1, p.55-59, 2005.
- SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 3.ed. Belo Horizonte-MG: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2010. 264p.
- SEEDOR, J.G.; QUARRACCIO, H.H; THOMPSON, D.D. The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. **Bone and Mineral Research**, v.6, p.339-346, 1991.
- SHEIKHLAR, A. NAVID, S. Effect of dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol concentration on growth performance and bone characteristics of Japanese quail fed diet deficient in calcium and phosphorus. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.8, n.10, p.1517-1520, 2009.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 235p.
- SOUZA, C.S.; VIEITES, F.M. Vitamin D₃ e seus metabólitos para frangos de corte. **Archivos de Zootecnia**, v.63(R), p.11-24, 2014.
- THORP, B.H.; WADDINGTON, D. Relationships between the bone pathologies, ash and mineral content of long bones in 35-day-old broiler chickens. **Research in Veterinary Science**, v.62, p.67-73, 1997.

Capítulo 3

**Níveis reduzidos de cálcio e fósforo em rações suplementadas com
1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal para
codornas japonesas em postura**

**Níveis reduzidos de cálcio e fósforo em rações suplementadas com
1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal para codornas japonesas
em postura**

Resumo: Estudou-se o efeito de níveis reduzidos de cálcio (Ca) e fósforo disponível (P_{disp}) em rações suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) de origem vegetal para codornas japonesas em postura. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3×2), com seis tratamentos: 1) ração basal (RB); 2) RB + 0,50 μg de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; 3) RB com redução em 15,0% de Ca e P_{disp} ; 4) T3 + 0,50 μg de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; 5) RB com redução em 30,0% de Ca e P_{disp} ; e 6) T5 + 0,50 μg de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, com sete repetições e seis aves por unidade experimental. Não houve interação significativa entre as reduções de Ca e P_{disp} x $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, bem como diferença estatística ($p > 0,05$) para as variáveis produtivas e de qualidade dos ovos. O percentual de cinzas nas cascas dos ovos, o peso do fígado, o Índice de Seedor e a resistência à quebra (RQ) foram influenciados pelas reduções dietéticas de Ca e P_{disp} ($p < 0,05$). Conclui-se que os níveis subótimos de Ca e P_{disp} associados ao suplemento de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nas rações não afetaram o desempenho produtivo, a qualidade de ovos e a biometria de vísceras de codornas japonesas em postura de 52 a 61 semanas de idade. Entretanto, a redução de Ca e P_{disp} sem adição da vitamina D₃ ativa compromete a qualidade óssea das aves, caracterizada pela diminuição da RQ.

Palavras-chave: desempenho, qualidade do ovo, resistência óssea, *Solanum glaucophyllum*, vísceras, vitamina D

Lower levels of calcium and phosphorus available and 1,25-dihydroxyvitamin-D₃-glycoside of plant origin for laying Japanese quail

Abstract: It was studied the effect of lower levels of calcium (Ca) and phosphorus available (A_P) and 1,25-dihydroxyvitamin-D₃-glycoside ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) of plant origin for laying Japanese quail. A completely randomized design in factorial was used (3×2), with six treatments: 1) basal diet (BD); 2) BD + 0.50 μg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; 3) BD with reduction of 15.0% Ca and A_P ; 4) T3 + 0.50 μg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; 5) BD with reduction of 30.0% Ca and A_P ; and 6) T5 + 0.50 μg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, with seven replicates of six birds each. There was no significant interaction of Ca and A_P reductions x $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ productive variables and quality of the eggs ($p > 0.05$). The percentage of ash in the egg

shells, liver weight, the Seedor Index and bone strength (BS) were influenced by dietary reductions in Ca and AP ($p < 0.05$). It is concluded that suboptimal levels of Ca and AP associated with the supplement $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in the diets did not affect the productive performance, egg quality and the visceral biometrics of Japanese quail of 52 to 61 weeks of age. However, the Ca and AP reduction without adding vitamin D_3 active compromises bone quality of the birds, characterized by decreased BS.

Keywords: bone strength, egg quality, performance, *Solanum glaucophyllum*, visceral, vitamin D

Introdução

A obtenção de bons índices zootécnicos em poedeiras comerciais resulta em sucesso no setor produtivo de ovos. Estima-se que a incidência de ovos quebrados seja de 1,0%, em ovos produzidos por aves jovens, e de até 9,0% do montante de ovos produzidos por aves mais velhas, o que tem como consequência a desqualificação dos ovos e menor remuneração aos produtores (Mazzuco & Bertechini, 2014).

Inúmeras variáveis influenciam a qualidade do ovo, tais como as relacionadas com a genética, fisiologia, nutrição, estados patológicos, sistemas de produção e manejo adotados (Vieira et al., 2012). A perda de ovos por quebras e trincas, geralmente está diretamente ligada à qualidade da casca. Desse modo, várias pesquisas têm sido direcionadas à melhoria da qualidade externa dos ovos (Carvalho & Fernandes, 2013).

Os estudos na área de nutrição de codornas concentram-se em temas específicos, tais como as exigências nutricionais de proteína, energia e aminoácidos (Costa et al., 2010). Entretanto, ainda são limitadas as informações acerca de minerais e vitaminas, uma vez que são essenciais para o metabolismo normal e, para a saúde, manutenção, crescimento, produção e reprodução.

Os minerais exercem funções estruturais, fisiológicas, catalíticas e reguladoras; formando componentes de órgãos e tecidos; agindo na manutenção da pressão osmótica, balanço ácido-básico e permeabilidade da membrana; e também como componentes específicos da estrutura de metaloenzimas, ativadores de sistemas e na replicação e diferenciação celular (Caputi et al., 2011).

Os níveis de cálcio (Ca) e fósforo (P) destacam-se, uma vez que estão relacionados com a produtividade das aves, atuando em funções metabólicas vitais (Costa et al., 2010). O P, a vitamina D, os sistemas hormonais e a idade do animal exercem influência no metabolismo do Ca. A concentração de Ca sérico mantém-se constante por um mecanismo homeostático que envolve o paratormônio, a calcitonina, a

proteína de ligação do Ca e a forma ativa da vitamina D₃, o 1,25 dihidroxicolecalciferol – 1,25(OH)₂D₃ (Nunes et al., 2006; Sepúlveda & Rosales, 2014).

Existem basicamente dois tipos de vitamina D, o ergocalciferol (D₂), de origem vegetal e o colecalciferol (D₃), animal. Para suínos, as formas dietéticas de D₂ e D₃ são eficientemente utilizadas, contudo, as aves aproveitam melhor a D₃ (Peixoto et al., 2012; Sepúlveda & Rosales, 2014). Tal discriminação refere ao resultado da ligação reduzida dos metabólitos da vitamina D₂ às proteínas ligadoras da vitamina D no sangue, levando a depuração mais rápida dos metabólitos da D₂ do plasma (Souza & Vieites, 2014).

Diante da variação nos valores recomendados de Ca e P disponível (P_{disp}) para codornas japonesas em postura, bem como da falta de informações do efeito da vitamina D₃ ativa sobre as características produtivas dessas aves, faz-se de relevância o presente estudo. Espera-se alcançar menores custos de produção, reduzir possíveis impactos no meio ambiente (menor excreção de P), sem que haja o comprometimento do desempenho produtivo e bem-estar das aves.

Objetivou-se avaliar o desempenho zootécnico, a qualidade dos ovos, a biometria visceral e a resistência óssea de codornas japonesas em postura alimentadas com rações suplementadas com 1,25(OH)₂D₃ de origem vegetal e/ou níveis reduzidos de Ca e P_{disp}.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG, Brasil, com duração de 63 dias (três períodos de 21 dias). O projeto obteve Registro no Comitê de Ética para Uso de Animais de Produção – CEUAP, DZO/UFV sob n^o.: 82/2013. Foram utilizadas 252 codornas japonesas em postura (*Coturnix coturnix japonica*), durante o período de 52 a 61 semanas de idade. Foi adotado delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial (três reduções de Ca e P_{disp} nas rações x duas suplementações com 1,25(OH)₂D₃), seis tratamentos, sete repetições e seis aves/unidade experimental. A densidade animal por unidade experimental foi de 141,66 cm²/ave. Os tratamentos corresponderam às seguintes rações:

- 1) Ração basal (RB) atendendo as recomendações de Ca e P_{disp};
- 2) RB + suplemento de 0,50 µg de 1,25(OH)₂D₃ de origem vegetal/kg de ração;
- 3) RB com redução em 15,0% nas recomendações de Ca e P_{disp};

- 4) RB com redução em 15,0% nas recomendações de Ca e P_{disp} + suplemento de 0,50 µg de 1,25(OH)₂D₃ de origem vegetal/kg de ração;
- 5) RB com redução em 30,0% nas recomendações de Ca e P_{disp};
- 6) RB com redução em 30,0% nas recomendações de Ca e P_{disp} + suplemento de 0,50 µg de 1,25(OH)₂D₃ de origem vegetal/kg de ração;

As rações foram formuladas seguindo-se as recomendações nutricionais de Rostagno et al. (2011), exceto para os níveis de Ca e P_{disp} (redução em 15,0 e 30,0%). O produto comercial utilizado como fonte da vitamina D₃ ativa (10 ppm de 1,25(OH)₂D₃/kg.), de origem vegetal – *Solanum glaucophyllum*, foi incluso nas rações em substituição ao material inerte (areia), **Tabela 1**.

Tabela 1. Composição das rações experimentais, na matéria natural.

% de redução de Ca e P _{disp} µg 1,25(OH) ₂ D ₃ /kg de ração	Tratamentos					
	0,00	0,00	15,00	15,00	30,00	30,00
	0,00	0,50	0,00	0,50	0,00	0,50
Ingredientes	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Milho	54,698	54,698	54,716	54,716	54,716	54,716
Farelo de soja	33,909	33,909	33,909	33,909	33,909	33,909
Óleo de soja	2,115	2,115	2,115	2,115	2,115	2,115
Calcário	7,203	7,203	6,141	6,141	5,077	5,077
Fosfato bicálcico	1,165	1,165	0,903	0,903	0,641	0,641
Sal	0,141	0,141	0,140	0,140	0,141	0,141
Lisina-HCl	0,096	0,096	0,096	0,096	0,096	0,096
DL-metionina	0,353	0,353	0,353	0,353	0,353	0,353
Premix vitamínico ¹	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix mineral ²	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Cloreto de colina	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
BHT ³	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Fonte de 1,25-dihidroxitamina-D₃⁴	0,000	0,050	0,000	0,050	0,000	0,050
Inerte ⁵	0,060	0,010	1,367	1,317	2,692	2,642
Total (kg)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
	Composição Calculada					
Proteína bruta (%)	19,94	19,94	19,94	19,94	19,94	19,94
Energia metabolizável (kcal/kg)	2800	2800	2800	2800	2800	2800
Cálcio (%)	3,099	3,099	2,634	2,634	2,169	2,169
Fósforo disponível (%)	0,323	0,323	0,275	0,275	0,226	0,226
Sódio (%)	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155
Lisina digestível (%)	1,083	1,083	1,083	1,083	1,083	1,083
Metionina+cistina digestível (%)	0,888	0,888	0,888	0,888	0,888	0,888
Treonina digestível (%)	0,680	0,680	0,680	0,680	0,680	0,680
Triptofano digestível (%)	0,253	0,253	0,253	0,253	0,253	0,253
Valina digestível (%)	0,941	0,941	0,941	0,941	0,941	0,941

¹Composição/kg de produto: Vit. A: 12.000.000 U.I., Vit. D₃: 3.600.000 U.I., Vit. E: 3.500 U.I., Ácido nicotínico: 40.000 mg, Ácido pantotênico: 12.000 mg, Vit. B₁₂: 20.000 mg, Vit. B₂: 8.000 mg, Vit. B₆: 5.000 mg, Vit. K: 3.000 mg, Vit. B₁: 2.500 mg, Ácido fólico: 1.500mg, Biotina: 200 mg, Veículo q.s.p.: 1.000 g. ²Composição/kg de produto: Manganês: 160 g, Ferro: 100 g, Zinco: 100 g, Cobre: 20 g, Cobalto: 2 g, Iodo: 2 g, Selênio: 150 mg, Veículo q.s.p.: 1000 g. ³Butil-hidróxi-tolueno, 99%. ⁴Produto comercial, fonte de vitamina D₃ ativa de origem vegetal – *Solanum glaucophyllum*, contendo 10 ppm de 1,25(OH)₂D₃/kg de produto. ⁵Areia.

As temperaturas (mínima e máxima) no galpão foram registradas uma vez ao dia, às 16:00 horas, e a umidade relativa do ar, duas vezes ao dia, às 08:00 e às 16:00 horas, por meio de um termo-higrômetro digital, posicionado no centro do galpão à altura da aves. O fornecimento de luz foi de 17 horas diárias, sendo controlado por um relógio automático (timer), que permitiu o acender e o apagar das luzes durante o período da noite, conforme o procedimento adotado em granjas comerciais.

O peso médio das aves no início do experimento foi $214,0 \pm 6,0$ gramas (52 semanas de idade) e no término foi de $220,0 \pm 4,0$ (61 semanas de idade). A água e a ração foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental. As sobras e os desperdícios de ração foram pesados e descontados da quantidade de ração pesada inicialmente e, fornecida às aves a cada período de 21 dias, para obtenção da quantidade de ração fornecida. Ao final de cada período foi realizada a divisão da quantidade de ração consumida, pelo número de aves de cada tratamento e pelo número de dias, sendo expresso em gramas de ração consumida/ave/dia. No caso de mortalidade das aves durante o período experimental, o consumo médio foi corrigido.

A produção média de ovos foi obtida, coletando-se diariamente o número de ovos produzidos, incluindo os quebrados, os trincados e os anormais (ovos com casca mole e sem casca), sendo expressa em porcentagem sobre a média de aves do período (ovo/ave/dia) e, sobre a média de aves alojadas no início do experimento (ovo/ave alojada). A relação de ovos íntegros produzidos foi expressa em porcentagem para cada tratamento, correspondendo à produção de ovos comercializáveis.

Todos os ovos íntegros produzidos em cada repetição foram pesados durante os três últimos dias de cada período, para a obtenção do peso médio, que por sua vez, foi multiplicado pelo número total de ovos produzidos no período experimental, obtendo-se assim a massa total de ovos. Esta massa total de ovos foi dividida pelo número total de aves por dia, sendo expressa em gramas de ovo/ave/dia. A conversão alimentar por dúzia de ovos foi determinada pelo consumo total de ração em quilogramas dividido pela dúzia de ovos produzidos (kg/dúzia) e a conversão por massa de ovos, pela massa de ovos em quilogramas (kg/kg).

No 16° e 17° dia de cada período, todos os ovos íntegros coletados foram submetidos à análise de gravidade específica, sendo imersos em soluções de NaCl com densidade variando de 1,055 a 1,100 g/cm³, com intervalos de 0,005 g/cm³ entre elas. A densidade foi medida por meio de um densímetro (Incoterm-OM-5565®).

Foram avaliados os pesos da gema, do albúmen e da casca do ovo. Para isso, quatro ovos aleatoriamente de cada repetição foram separados nos dois últimos dias

consecutivos de cada período. Os ovos foram pesados individualmente em balança com precisão de $\pm 0,001\text{g}$. Após as pesagens, os ovos foram quebrados e o peso da gema de cada ovo foi registrado. A respectiva casca foi lavada e seca ao ar, e posteriormente pesada. O peso do albúmen foi obtido entre a diferença do peso do ovo e o peso da gema mais o peso da casca. Os valores percentuais dos componentes dos ovos também foram calculados.

A medida da espessura das cascas (obtidas das análises de componentes) foi realizada utilizando um paquímetro digital (Mitutoyo[®] 0-150mm, precisão 0,001mm). As cascas foram medidas em três pontos distintos da área equatorial para a obtenção da média da espessura. A determinação de cinzas nas cascas seguiu a metodologia descrita em Silva & Queiroz (2006).

No término do experimento, uma ave/repetição foi pesada, sacrificada por deslocamento cervical e teve o fêmur e as vísceras (moela, pâncreas, fígado e coração) removidos e imediatamente pesados.

No fêmur direito in natura procedeu-se a retirada de todo tecido aderente, com auxílio de tesoura e pinça, sendo posteriormente pesado em balança analítica, e foram realizadas as mensurações dos diâmetros (horizontal e vertical) e do comprimento (mm) usando paquímetro digital. Dividindo-se o peso do osso (mg) pelo seu comprimento (mm), foi calculado o Índice de Seedor (Seedor et al., 1991).

Na determinação da resistência óssea, os ossos foram descongelados até a temperatura ambiente e, posteriormente submetidos a um ensaio de flexão, com o uso de uma máquina universal de ensaios mecânicos Contenco, capacidade de 10 T (UMC 100[®]). Todos os ossos foram testados na mesma posição, com as suas extremidades apoiadas em dois suportes apropriadamente afastados de acordo com o comprimento, sendo a carga aplicada no centro (região da diáfise do osso), seguindo-se especificações da Sociedade Americana de Engenharia Agrícola (ASAE S459, 1998). A distância entre os apoios (vão) utilizada foi de 2,20 cm, e a velocidade foi de 2,00 mm/min. O momento da ruptura do osso foi registrado em quilograma força (kgf).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância em DIC em esquema fatorial (3x2), considerando o nível de 5,0% de probabilidade. A escolha do teste de comparação de média (Student-Newman-Keuls – SNK ou teste t) seguiu as recomendações de Sampaio (2010), levando-se em consideração o coeficiente de variação e o número de médias a serem comparadas, de forma a evitar os erros Tipo I e Tipo II. As análises foram realizadas utilizando o software SISVAR, versão 5.6 (Build 86), de análises estatísticas e planejamento de experimento (Ferreira, 2014).

Resultados e Discussão

As médias de temperaturas mínima e máxima e da umidade relativa do ar na manhã e na tarde, registradas no interior do galpão foram $15,47 \pm 1,90^\circ\text{C}$, $29,16 \pm 1,30^\circ\text{C}$, $77,01 \pm 2,4\%$ e $55,14 \pm 6,2\%$, respectivamente. A faixa de conforto térmico das codornas na fase adulta está compreendida entre $18,0$ e $28,0^\circ\text{C}$ e a umidade relativa, entre $65,0$ e $70,0\%$ (Oide, 2013; Guimarães et al., 2014). Pode-se inferir que as aves estiveram em conforto térmico durante o período experimental.

Constatou-se que não houve interação significativa entre as reduções de Ca e $P_{\text{disp}} \times 1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, bem como diferença estatística ($p > 0,05$) para todas as variáveis produtivas estudadas: consumo de ração, produção de ovos por ave por dia e por ave alojada, ovos comercializáveis, peso médio do ovo, massa de ovos, conversão alimentar por dúzia e por massa de ovos e a viabilidade das aves (**Tabela 2**). Os resultados verificados assemelham-se aos encontrados por Masukawa et al., (2001) e Pizzolante et al., (2007) que estudaram diferentes níveis de Ca, bem como aos de Costa et al., (2010) e Vieira et al., (2012) que avaliaram Ca e P_{disp} para codornas japonesas.

As codornas japonesas são tolerantes às variações de Ca nas dietas (2,0 a 3,5%), o que permite adequar metabolicamente, o nível de Ca necessário à produção de ovos e excretar o excesso (Masukawa et al., 2001). Ainda, ressalta-se a necessidade das referidas aves em regular o seu consumo de ração quanto à ingestão de P_{disp} dietético frente à relação desse mineral com o nível de Ca e a produção de ovos (Costa et al., 2011).

Costa et al. (2010) evidenciaram que, quando o Ca é fornecido em níveis baixos na dieta, há maior produção de proteínas envolvidas no transporte intracelular de Ca (calbindina, CaBP), aumentando o aproveitamento desse mineral. Isso pode justificar o ocorrido no presente estudo, a ausência de efeito sob as variáveis produtivas mediante as quantidades reduzidas de Ca e P_{disp} . Contudo, a elevação dos teores de Ca (excesso) reduz a absorção, comprovando que, sob baixa disponibilidade há maior eficiência de utilização (Dell'isola & Baião, 2001).

A mortalidade acumulada durante o todo o experimento (63 dias) foi de 5,56% (0,62% por semana), isso em decorrência do avanço da idade das aves, que estavam no período final de produção. A mortalidade de 0,3% por semana ou 12,0% acumulada foi relatada como a normal para codornas de seis a 48 semanas de idade, sendo para lotes sem problemas sanitários, bem manejados e com nutrição adequada (Soares, 2013). Togashi et al. (2008) descreveram que ao final da vida do lote a mortalidade pode

chegar a 30,0%, e apesar de inúmeros informes de problemas de prolapso de cloaca, muitas mortes possuem causas indeterminadas.

Tabela 2. Desempenho produtivo, qualidade de ovos, resistência óssea e biometria de vísceras de codornas japonesas

Variável	Tratamentos						CV %
	0,00	0,00	15,00	15,00	30,00	30,00	
% redução de Ca e P _{disp}	0,00	0,00	15,00	15,00	30,00	30,00	
µg 1,25(OH) ₂ D ₃ /kg de ração	0,00	0,50	0,00	0,50	0,00	0,50	
Variável	T1	T2	T3	T4	T5	T6	CV %
Desempenho Produtivo							
Consumo de ração (g/ave/dia) ^{ns}	29,52	28,75	30,11	29,44	28,99	20,86	4,73
Ovos/ave alojada (%) ^{ns}	80,76	79,14	85,37	82,05	82,65	82,35	8,31
Ovos/ave/dia (%) ^{ns}	80,94	79,39	85,74	82,11	85,50	82,44	7,34
Ovos comercializáveis (%) ^{ns}	98,61	98,28	98,99	98,99	98,79	98,32	1,38
Peso médio dos ovos (g) ^{ns}	12,66	12,81	12,72	12,50	12,58	12,79	3,34
MO ¹ (g ovo/ave/dia) ^{ns}	10,25	10,17	10,86	10,27	10,41	10,53	8,35
CA ² /dúzia(kg/dúzia) ^{ns}	0,44	0,44	0,42	0,43	0,42	0,44	6,49
CA ² /MO ¹ (kg/kg) ^{ns}	2,89	2,84	2,78	2,88	2,81	2,84	6,50
Viabilidade (%) ^{ns}	92,86	92,86	95,24	97,62	92,86	95,24	8,76
Qualidade dos Ovos							
Peso do ovo (g) ^{ns}	12,66	12,99	12,68	12,59	12,69	12,80	2,90
Peso do albúmen (g) ^{ns}	7,84	8,03	7,84	7,72	7,80	7,88	3,49
Peso da casca (g) ^{ns}	0,97	0,98	0,96	0,97	0,95	0,97	4,18
Peso da gema (g) ^{ns}	3,84	3,98	3,88	3,90	3,94	3,94	3,70
Albúmen (%) ^{ns}	61,95	61,82	61,60	61,30	61,42	61,46	1,64
Casca (%) ^{ns}	7,65	7,54	7,55	7,70	7,49	7,49	3,39
Gema (%) ^{ns}	30,20	30,64	30,64	31,00	31,04	30,71	2,81
Espessura da casca (mm) ^{ns}	0,1959	0,1953	0,1924	0,1926	0,1924	0,1948	4,19
Gravidade específica (g/cm ³) ^{ns}	1,069	1,070	1,069	1,069	1,064	1,068	0,45
Matéria seca nas cascas (%) ^{ns}	97,95	98,01	97,95	98,05	97,97	98,07	0,17
Cinzas nas cascas (%) [*]	91,32	91,50	90,79	90,49	90,64	89,44	1,58
Biometria das Vísceras							
Peso da ave (g) ^{ns}	223,36	217,99	228,33	223,63	227,62	225,80	4,56
Coração (g) ^{ns}	1,67	1,73	1,84	1,59	1,92	1,89	26,85
Fígado (g) [*]	5,51	5,60	6,17	6,31	6,38	5,58	11,58
Moela (g) ^{ns}	4,48	4,16	3,98	4,14	4,08	4,23	11,99
Pâncreas (g) [*]	0,75	0,63	0,69	0,71	0,72	0,64	14,11
Coração (%) ^{ns}	0,74	0,79	0,80	0,72	0,84	0,84	26,13
Fígado (%) ^{ns}	2,47	2,58	2,70	2,83	2,80	2,47	11,83
Moela (%) ^{ns}	2,00	1,92	1,74	1,85	1,80	1,87	11,03
Pâncreas (%) ^{ns}	0,34	0,29	0,30	0,32	0,32	0,28	15,18
Qualidade Óssea							
Índice de Seedor [*]	20,60	18,29	19,65	20,94	18,68	17,95	9,63
Resistência à quebra (kgf) [*]	3,17	3,80	3,00	3,00	1,83	2,67	35,37

¹MO = massa de ovos; ²CA = conversão alimentar; CV = coeficiente de variação; ns = não significativo (p>0,05). *Interação significativa (p<0,05).

Quanto à qualidade dos ovos não houve interação significativa dos níveis reduzidos de Ca e P_{disp} nas dietas x suplementação com 1,25(OH)₂D₃, bem como diferença estatística (p>0,05) para as características: gravidade específica, espessura da casca, gema (g e %), casca (g e %), albúmen (g e %) e peso do ovo (**Tabela 2**).

Os resultados verificados indicaram que as aves foram capazes de metabolizar $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ a partir do colecalciferol dietético, e/ou utilizar a quantidade adicional do referido metabólito na manutenção da qualidade dos ovos. O fato observado também foi descrito por Frost & Roland (1990), que estudaram o efeito do colecalciferol (0; 500; 1000; 1500 ICU/kg) e $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (0; 0,50 e 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$) nas rações para poedeiras Hy-Line W36, com 65 semanas de idade. Os autores mostraram que o uso do metabólito não ofereceu efeito benéfico para a produção e qualidade dos ovos.

O fato de não ter ocorrido piora nas variáveis de qualidade dos ovos, mediante as quantidades reduzidas de Ca e P_{disp} nas rações, indicou que possivelmente as recomendações preconizadas para os referidos minerais estejam elevadas, ou como mencionado anteriormente, as aves foram tolerantes as variações dos níveis dietéticos de Ca e P_{disp} .

De modo similar ao verificado, Masukawa et al., (2001) pesquisando níveis de Ca (2,0; 2,5; 3,0 e 3,5%) e 0,55% P_{disp} em rações para codornas japonesas em fase de produção, não encontraram efeito significativo sobre o peso dos ovos, percentagem e espessura da casca e gravidade específica dos ovos. Costa et al. (2011) concluíram que 3,0% de Ca e 0,15% de P_{disp} nas rações foram suficientes para obtenção de desempenho satisfatório e manutenção da integridade física dos ovos, embora tenha sido observada redução na mineralização da casca dos ovos de codornas japonesas no terço final de produção (45 a 57 semanas de idade).

O percentual de cinzas nas cascas foi afetado pelas reduções em 15,0% e 30,0% nos valores recomendados para Ca e P_{disp} ($p < 0,05$), ocorrendo interação e diferença significativa, de modo que, mesmo com o suplemento da vitamina D_3 ativa, houve menor mineralização, 90,49% e 89,44%, respectivamente (**Tabela 3**). Com o aumento da idade, a poedeira diminui progressivamente a habilidade em hidroxilar a vitamina D_3 no fígado e rim, resultando em produção inadequada de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, que por sua vez, atua na absorção de Ca e P para formação óssea e da casca. Assim, com o avançar da idade, ocorre declínio normal da qualidade da casca (Carvalho & Fernandes, 2013). O nível suplementar de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ofertado no presente estudo, não foi suficiente para essa deficiência.

O conhecimento das alterações morfológicas do sistema digestório faz-se de importância, uma vez que essas apresentam efeito no aproveitamento de nutrientes da ração, e consequentemente nos índices zootécnicos. O pâncreas apresentou-se menor (**Tabela 2**), somente na dieta com o atendimento das recomendações de Ca e P_{disp} preconizadas por Rostagno et al. (2011) associado ao $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Kapica & Puzio

(2004) não observaram diferenças para o peso relativo do pâncreas de frangos de corte suplementados com o 1,25(OH)₂D₃ (3,0µg/kg) e fitase (750 FTU/kg) nas rações. Entretanto, a quantidade de proteínas totais verificada no tecido pancreático foi maior nos tratamentos com o metabólito e fitase.

Flauzina (2007) explicou que em situações de deficiência nutricional, pode ocorrer grande mobilização de nutrientes do organismo da ave, forçando maior atividade hepática, e hipertrofia do fígado, como o observado nesse estudo. Notou-se que apenas na restrição mineral, em 30,0%, associada ao suplemento com o metabólito da vitamina D₃, houve redução no tamanho do fígado das codornas (p<0,05, **Tabela 3**). Kapica & Puzio (2004) observaram que o fígado das aves que receberam a vitamina D₃ ativa e fitase também apresentaram peso relativo menor quando comparados aos provenientes das aves alimentadas com ração padrão (controle).

Verificou-se interação significativa, % Ca e P_{disp} x 1,25(OH)₂D₃ nas rações para o Índice de Seedor – IS (**Tabela 3**), de modo que o maior valor foi observado na restrição mineral de 15,0% associada ao metabólito da vitamina D₃. O IS é utilizado como indicativo da densidade óssea, de modo que, quanto maior esse índice, maior a densidade da peça e vice-versa.

Tabela 3. Desdobramento das interações significativas no percentual de cinzas nas cascas, pesos do pâncreas e fígado, índice de seedor e resistência óssea de codornas japonesas

Variável	µg 1,25(OH) ₂ D ₃ / kg de ração	% redução de Ca e P _{disp} nas rações		
		0,00	15,00	30,00
Cinzas nas cascas (%)	0,00	91,32 a A	90,79 a A	90,64 a A
	0,50	91,50 a A	90,49 ab A	89,44 b A
Pâncreas (g)	0,00	0,75 a A	0,69 a A	0,72 a A
	0,50	0,63 a B	0,71 a A	0,64 a A
Fígado (g)	0,00	5,51 a A	6,17 a A	6,38 a A
	0,50	5,60 a A	6,31 a A	5,58 a B
Índice de Seedor	0,00	20,60 a A	19,65 a A	18,68 a A
	0,50	18,29 b B	20,94 a A	17,96 b A
Resistência óssea (kgf) ¹	0,00	3,17 a A	3,00 ab A	1,83 b A
	0,50	3,80 a A	3,00 a A	2,67 a A

Médias seguidas letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo Teste Student-Newman-Keuls (p>0,05). ¹Médias seguidas letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo Teste t (p>0,05).

No que se refere à resistência óssea (RQ), observou-se interação significativa dos níveis reduzidos de Ca e P_{disp} nas dietas x suplementação com 1,25(OH)₂D₃, bem como diferença estatística (p<0,05). A RQ dos fêmures foi comprometida na redução dietética em 30,0% de Ca e P_{disp}, cujo valor foi 42,27% menor (1,83 kgf), quando

comparado ao tratamento controle (3,17 kgf), **Tabela 3**. Contudo, com a adição da vitamina a referida diminuição de RQ não foi observada. Bachmann et al. (2013) estudaram a suplementação com 1,25(OH)₂D₃ nas rações para frangos de corte, sendo esse também advindo de folhas secas de *Solanum glaucophyllum* – SG (10 µg) e extratos purificados (9,50 µg e 37,9 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração) e o metabólito de origem sintética (2,5µg e 5,0 µg/kg de ração). Os autores citados verificaram que a resistência à ruptura, bem como a rigidez das tíbias foram numericamente maiores para os tratamentos com a adição do metabólito quando comparado ao controle. As folhas secas de SG apresentaram valores semelhantes àqueles observados com uso de 5,0 µg de vitamina D₃ ativa sintética.

Conclusões

O fornecimento de ração com níveis reduzidos de Ca para 2,17% e de P_{disp} para 0,23% e 0,50 µg de 1,25(OH)₂D₃ de origem vegetal não afeta o desempenho produtivo, a qualidade de ovos e a biometria de vísceras de codornas japonesas em postura de 52 a 61 semanas de idade. Entretanto, a redução de Ca e P_{disp} sem adição do metabólito compromete a qualidade óssea das aves, caracterizada pela redução da resistência à quebra.

Referências

- AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS. **ASAE Standard S459. Shear and three-point bending test of animal bone**. Saint Joseph: ASAE, p. 581-583, 1998.
- BACHMANN, H.; AUTZEN, S.; FREY, U.; WEHR, U.; RAMBECK, W.; McCORMACK, H.; WHITEHEAD, C.C. The efficacy of a standardised product from dried leaves of *Solanum glaucophyllum* as source of 1,25-dihydroxycholecalciferol for poultry. **British Poultry Science**, v.54, n.5, p.642-652, 2013.
- CAPUTI, B.; COSTA, A.C.; NOGUEIRA, E.T. **Nutrição responsável: contribuindo com o meio ambiente – estratégias para reduzir a excreção e perda de nutrientes em aves e suínos**. Toledo: GFM Gráfica & Editora, p.23-30, 2011. 112p.
- CARVALHO, L.S.S.; FERNANDES, E.A. Formação da casca de ovos de reprodutoras e poedeiras comerciais. **Medicina Veterinária**, v.7, n.1, p.25-44, 2013.
- COSTA, C.H.R.; BARRETO, S.L.T.; UMIGI, R.T.; LIMA, H.J.D.; ARAUJO, M.S.; MEDINA, P. Balanço de cálcio e fósforo e estudo dos níveis desses minerais em dietas para codornas japonesas (45 a 57 semanas de idade). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.8, p.1748-1755, 2010.

COSTA, C.H.R.; BARRETO, S.L.T.; GOMES, P.C.; HOSODA, L.H.; LIPARI, C.A.; LIMA, H.J.D. Níveis de fósforo disponível em dietas para codornas japonesas de 45 a 57 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.10, p.2152-2160, 2011.

DELL'ISOLA, A.T.P.; BAIÃO, N.C. Cálcio e fósforo para galinhas poedeiras – Avicultura. **Caderno Técnico de Veterinária e Zootecnia**, n.34, p.65-92, 2001.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência & Agrotecnologia**, v.38, n.2, p.109-112, 2014.

FLAUZINA, L.P. **Desempenho produtivo e biometria de vísceras de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de proteína bruta**. Dissertação [Mestrado em Ciências Agrárias]. Brasília-DF: Universidade Federal de Brasília, 2007. 36p.

FROST, T.J.; ROLAND, D.A. Influence of vitamin D₃, 1 α -hydroxyvitamin D₃, and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on eggshell quality, tibia strength, and various production parameters in commercial laying hens. **Poultry Science**, v.69, p.2008-2016, 1990.

GUIMARÃES, M.C.C.; FURTADO, D.A.; NASCIMENTO, J.W.B.; TOTA, L.C.A.; SILVA, C.M.; LOPES, K.B.P. Efeito da estação do ano sobre o desempenho produtivo de codornas no semiárido paraibano. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.18, n.2, p.231-237, 2014.

KAPICA, M. PUZIO, I. Influence of dietary phytase and 1,25-dihydroxycholecalciferol supplementation on the activity of digestive enzymes in chickens. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v.48, p.519-522, 2004.

MASUKAWA, Y.; FERNANDES, E.B.; MORAES, V.M.B.; ARIKI, J.; BRUNO, L.D.G. Níveis de cálcio da dieta sobre o desempenho e a qualidade da casca de ovos de codornas japonesas. **Ars Veterinaria**, v.17, n.2, p.144-148, 2001.

MAZZUCO, H.; BERTECHINI, A.G. Critical points on egg production: causes, importance and incidence of eggshell breakage and defects. **Ciência & Agrotecnologia**, v.38, n.1, p.7-14, 2014.

NUNES, R.V.; POZZA, P.C.; SCHERER, C.; CAMPESTRINI, E.; ROCHA, L.D.; NUNES, C.G.V.; COSTA, F.G.P. Efeito dos teores de cálcio para poedeiras semipesadas durante a fase de pré-postura e no início da postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.2007-2012, 2006.

OIDE, M.M. Ambiência e sistemas de climatização. In: V Simpósio Internacional, IV Congresso Brasileiro de Coturnicultura. **Anais**. São Carlos-SP: Suprema Gráfica, 2013. p.33-46.

PEIXOTO, P.V.; KLEM, M.A.P.; FRANCA, T.N. NOGUEIRA, V.A. Hipervitaminose D em animais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.7, p.573-594, 2012.

PIZZOLANTE, C.C.; SALDANHA, E.S.P.B; GARCIA, E.A.; SOUZA, H.B.A.; SCATOLINI, A.M.; BOIAGO, M.M. Efeito do horário de fornecimento de rações contendo diferentes níveis de cálcio sobre o desempenho produtivo e qualidade de ovos

de codornas japonesas (*Coturnix japonica*) em final de produção. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.4, p.677-683, 2007.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T.; EUCLIDES, R.F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3.ed. Viçosa-MG: UFV/DZO, 2011. 252p.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 3.ed. Belo Horizonte-MG: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2010. 264p.

SEEDOR, J.G.; QUARRACCIO, H.H; THOMPSON, D.D. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. **Bone and Mineral Research**, v.6, p.339-346, 1991.

SEPÚLVEDA, C.A.G.; ROSALES, R.B. Mode of action of vitamin D₃, 1- α -hydroxycholecalciferol (1- α -OH-D₃) and 25-hydroxycholecalciferol (25-OH-D₃) in commercial laying hens. **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v.9, n.1, p.114-127, 2014.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 235p.

SOARES, N.M. Diagnóstico das causas de mortalidade em codornas japonesas. In: V Simpósio Internacional, IV Congresso Brasileiro de Coturnicultura. **Anais**. São Carlos-SP: Suprema Gráfica, 2013. p.59-64

SOUZA, C.S.; VIEITES, F.M. Vitamin D₃ e seus metabólitos para frangos de corte. **Archivos de Zootecnia**, v.63(R), p.11-24, 2014.

TOGASHI, C.K.; SOARES, N.M.; MURAKAMI, A.E. Levantamento técnico das granjas produtoras de ovos de codornas localizadas em Bastos e região, estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, v.38, n.12, p.27-30, 2008.

VIEIRA, D.V.G.; BARRETO, S.L.T.; VALERIANO, M.H.; JESUS, L.F.D.; SILVA, L.F.F.; MENCALHA, R.; BARBOSA, K.S.; MENDES, R.K.V.; CASSUCE, M.R.; MELO, T.S. Exigências de cálcio e fósforo disponível para codornas japonesas de 26 a 38 semanas de idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.1, p.204-213, 2012.

Capítulo 4

Características ósseas de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo níveis reduzidos de cálcio e fósforo e suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Características ósseas de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo níveis reduzidos de cálcio e fósforo e suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Resumo: Avaliou-se o efeito de níveis reduzidos de cálcio (Ca) e fósforo disponível (P_{disp}) e adição de 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) de origem vegetal nas rações sobre as características ósseas de codornas japonesas em postura com 61 semanas de idade. O delineamento adotado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x2), com seis tratamentos [1) ração basal (RB); 2) RB + 0,50 µg de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; 3) RB com redução em 15,0% de Ca e P_{disp} ; 4) T3 + 0,50 µg de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; 5) RB com redução em 30,0% de Ca e P_{disp} ; e 6) T5 + 0,50 µg de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$], seis repetições e seis aves por unidade experimental. As variáveis estudadas nas tíbias e fêmures das aves foram: comprimento, diâmetros, peso in natura, resistência a quebra (RQ), Índice de Seedor (IS), cinzas, proteínas colagenosas (PC), não colagenosas (PNC) e totais (PT). Os pesos in natura, comprimentos, diâmetros verticais, RQ, IS, PNC, PT e o conteúdo mineral das tíbias não foram influenciados pelos tratamentos. Houve interação significativa entre os níveis de Ca e P_{disp} x $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ adicional nas rações, para as quantidades de PC, PNC, PT e cinzas ($p < 0,05$), nos fêmures. Apesar das modificações observadas na composição orgânica e mineral dos ossos, conclui-se que as dietas contendo níveis reduzidos de Ca e P_{disp} e $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ não comprometeram a qualidade óssea das aves.

Palavras-chave: cinzas, colágeno, colecalciferol, Índice Seedor, resistência à quebra, *Solanum glaucophyllum*

Bony characteristics of laying Japanese quail fed rations with lower levels of calcium and phosphorus and supplemented with 1,25-dihydroxyvitamin-D₃-glycoside of plant origin

Abstract: It was evaluated the effect of lower levels of calcium (Ca) and phosphorus available (A_P) and adding 1,25-dihydroxyvitamin-D₃-glycoside ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) of plant origin in diets on bone characteristics of laying Japanese quails with 61 weeks age. A completely randomized design in factorial (3x2) was used, with six treatments [1) basal diet (BD); 2) BD + 0.50 µg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; 3) BD with reduction of 15.0% Ca and A_P ; 4) T3 + 0.50 µg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$; 5) BD with reduction of 30.0% Ca and A_P ; and 6) T5 + 0.50µg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$], six replicates and six birds per experimental unit. The variables

studied in the tibias and femurs of the quails hens were: length, diameter, weight in natura, breaking strength (BS), Seedor Index (SI), ash, collagenous (CP), non-collagenous (NCP) and total proteins (TP). The weights in natura, length, vertical diameters, RQ, IS, NCP, and the mineral content of the tibia were not affected by treatments. There was a significant interaction between the levels of Ca and $\text{AP} \times 1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in additional feed to the CP quantities, NCP, TP and ash ($p < 0.05$) in the femurs. Although the changes observed in organic and mineral composition of the bone, it is concluded that diets containing lowers levels of Ca and AP and $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ did not impaired bony quality of birds.

Keywords: ash, breaking strength, cholecalciferol, collagen, Seedor Index, *Solanum glaucophyllum*

Introdução

O crescimento do esqueleto e a remodelagem do osso regulam-se por complexas interações entre potencial genético, ambiente e nutrição (Watkins et al., 2001). O cálcio (Ca), o fósforo (P) juntamente com a vitamina D_3 , destacam-se como sendo nutrientes influenciadores da manutenção óssea (Faitarone et al., 2012).

As poedeiras comerciais transferem diariamente 10% do Ca corporal total para a formação da casca dos ovos, isso impõe alta demanda de Ca^{2+} para manter homeostase sanguínea. Nesse sentido, dois hormônios estão envolvidos na regulação do Ca, o metabólito da vitamina D_3 , 1,25 dihidroxicolecalciferol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) e o paratormônio – PTH (Bar, 2008).

Mazzuco (2005) relatou que imbalanços nutricionais, tais como as deficiências de Ca, fósforo (P) e vitamina D exemplificam a importância da homeostase do Ca para aves, afetando a resistência e a mineralização óssea. A baixa concentração de Ca no intestino estimula a secreção de PTH e síntese de vitamina D, que por sua vez, ativam mecanismos que induzem à reabsorção óssea, liberando os minerais presentes nos ossos, conduzindo gradualmente ao comprometimento da integridade do esqueleto.

Durante o processo de reabsorção, o osso é dissolvido e digerido pelas enzimas e ácidos produzidos pelos osteoclastos e seus produtos de degradação liberados em ambiente extracelular. O metabolismo reabsortivo intensifica-se principalmente ao início da postura, de modo que o tecido ósseo estrutural de aves de alta produção mobiliza-se para formação da casca do ovo (Braga et al., 2012). Com o avançar da idade, a ave perde gradualmente osso estrutural e medular, aumentando a possibilidade de fragilidade óssea, osteopenia e osteoporose (Fleming, 2008). Ainda, o fígado diminui

progressivamente a atividade hidroxiladora da vitamina D₃, resultando em inadequada produção de 1,25(OH)₂D₃ e conseqüente declínio na qualidade da casca e resistência da tíbia (Carvalho e Fernandes, 2013).

O osso constitui-se de 69,0% de materiais inorgânicos, 22,0% de matriz orgânica e 9,0% de água. A matriz orgânica, constituída de colágeno, contribui para a tenacidade óssea, modula a resistência do tecido e as propriedades de crescimento fornecendo suporte orientado para a matriz mineral e contribuindo para a resistência à tração do osso (Müller et al., 2012; Oliveira et al., 2014). Cerca de 30% da porção orgânica da matriz extracelular compõe-se por proteínas colagenosas (PC), sendo 90% colágeno tipo I e os 10% restantes constituídos por proteoglicanas e proteínas não colagenosas (PNC) como osteocalcina, osteonectina e alguns fatores de crescimento (Junqueira e Carneiro, 2004).

As Gla-proteínas, que compõem parte das PNC, podem inibir a mineralização óssea ou estimular a ação dos osteoclastos, atuar como responsáveis enucleadores para a formação de cristais de hidroxiapatita ou, no caso da osteocalcina, em função da taxa dos osteoclastos, no processo de reabsorção óssea (Araújo et al., 2011).

A tíbia tem sido usada como modelo ósseo para a avaliação de disfunções metabólicas, entretanto, a seqüência de maturação óssea tem desenvolvimento centrípeto, com gradiente de amadurecimento distal para proximal nos ossos dos membros. Assim, faz-se de importância também avaliar o fêmur, pois a velocidade de mineralização e outros aspectos de desenvolvimento desse osso ocorrem mais lentamente que na tíbia (Müller et al., 2012).

Objetivou-se com este estudo avaliar a resistência à quebra e a composição orgânica e mineral de tíbias e fêmures de codornas japonesas em postura alimentadas com rações contendo níveis reduzidos de Ca e P_{disp} e suplementadas com 1,25(OH)₂D₃-glicosídeo de origem vegetal.

Material e Métodos

As informações acerca do delineamento estatístico adotado, descrição dos tratamentos, número de animais, rações e demais condições experimentais, foram devidamente descritas no **Capítulo 3**.

No término do experimento, seis aves de cada tratamento (seis repetições) foram pesadas, sacrificadas por sangria e tiveram as tíbias (36 pares) e os fêmures (36 pares) removidos. Os ossos foram limpos de todo tecido aderente, identificados e congelados (-20°C). As análises da composição orgânica e mineral dos ossos foram realizadas no

Laboratório de Bioquímica Animal (LBA), do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (DBB) da UFV.

Nos ossos in natura, procedeu-se a retirada de todo tecido aderente, com auxílio de tesouras e pinças, pesagem em balança analítica ($\pm 0,0001\text{g}$), bem como as mensurações dos diâmetros (horizontal e vertical) e do comprimento (mm) usando paquímetro digital (Mitutoyo[®] 0-150mm, precisão 0,001mm). Dividindo-se o peso do osso (mg) pelo seu comprimento (mm), foi calculado o Índice de Seedor (Seedor et al., 1991).

As tíbias e os fêmures direitos foram usados na determinação da resistência à quebra, sendo descongelados até a temperatura ambiente e, posteriormente submetidos a um ensaio de flexão, com o uso de uma máquina universal de ensaios mecânicos Contenco, capacidade de 10 T (UMC 100[®]). Todos os ossos foram testados na mesma posição, com as suas extremidades apoiadas em dois suportes apropriadamente afastados de acordo com o comprimento, sendo a carga aplicada no centro (região da diáfise do osso), seguindo-se especificações da Sociedade Americana de Engenharia Agrícola (ASAE S459, 1998). A distância entre os apoios (vão) utilizada foi de 2,20 cm para os fêmures, 2,53 cm para os tibiotarsos, e a velocidade foi de 2,00 mm/min. O momento da ruptura do osso foi registrado em quilograma força (kgf).

Após a obtenção da resistência, os ossos foram cortados longitudinalmente, sendo removida a medula óssea com jatos de água destilada. Em seguida, foram desengordurados com éter de petróleo, em aparelho Soxhlet, por quatro horas, para a determinação das concentrações de proteínas colagenosas (PC) e não colagenosas (PNC), conforme proposto por Barbosa et al., (2010).

Os ossos foram desmineralizados com solução de sal dissódico de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) para extração de PNC. O fim da extração foi confirmado com ácido oxálico, que permitiu identificar a desmineralização completa. As PNC foram quantificadas pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina sérica bovina como padrão.

Depois de desengordurados e desmineralizados, os ossos foram lavados exaustivamente com água destilada e deionizada para retirada do EDTA e então usados para determinação de PC, utilizando o método de Kjeldahl para estimar o nitrogênio total (NT). O teor de PC foi obtido, multiplicando-se o NT pelo fator 6,25 (Silva e Queiroz, 2006). Os percentuais das proteínas ósseas foram calculados em relação ao peso seco do osso seco e desengordurado.

Para a determinação do conteúdo mineral, as tíbias e os fêmures esquerdos foram descongelados e submetidos à estufa 105°C por seis horas, e em seguida, desengordurados por com éter de petróleo, em aparelho Soxhlet, por quatro horas, sendo então obtidos os pesos secos e desengordurados dos ossos. Posteriormente, foram calcinados em mufla a 600°C, por um período de seis horas, para mensuração dos teores de cinzas e posterior preparo de solução mineral (via seca), seguindo-se a metodologia de Silva e Queiroz (2006).

O cálcio nos ossos foi determinado por espectrometria de absorção atômica, e o fósforo por colorimetria. Os valores percentuais dos minerais foram calculados em relação ao peso do osso seco e desengordurado (Barbosa et al., 2010). A relação cálcio:fósforo (Ca:P) foi obtida dividindo-se a percentagem de Ca pela de P nas cinzas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância em DIC em esquema fatorial (3x2), considerando o nível de 5,0% de probabilidade. A escolha do teste de comparação de média (Student-Newman-Keuls ou teste t) seguiu as recomendações de Sampaio (2010), levando-se em consideração o coeficiente de variação e o número de médias a serem comparadas, de forma a evitar os erros Tipo I e Tipo II. As análises foram realizadas utilizando o software SISVAR, versão 5.6 (Build 86), de análises estatísticas e planejamento de experimento (Ferreira, 2014).

Resultados e Discussão

Os pesos in natura, comprimentos, diâmetros verticais e Índice de Seedor das tíbias direitas e esquerdas das codornas japonesas não foram influenciados pela redução de cálcio (Ca) e fósforo disponível (P_{disp}) e/ou acréscimo de 1,25-dihidroxitamina- D_3 -glicosídeo ($1,25(\text{OH})_2D_3$) de origem vegetal nas rações (**Tabela 1**). Pode-se inferir que as quantidades fornecidas de Ca e P_{disp} estavam em conformidade com o requerimento do tecido ósseo das aves, e que possivelmente as recomendações preconizadas para os referidos minerais estão elevadas.

Garcia et al., (2013) que ao estudarem $1,25(\text{OH})_2D_3$ e outras fontes de vitamina D_3 na alimentação de frangos de corte relataram que diâmetros, resistência à quebra, cinzas, Índice Seedor nos fêmures e tibiotarsos das aves aos 7, 21 e 42 dias de idade não foram influenciados pela vitamina. Os autores citados forneceram as diferentes formas da vitamina D_3 em quantidade equivalente ao valor requerido pelos animais. Pode ser que no presente estudo, o mesmo tenha acontecido, ou seja, a quantidade de vitamina D_3 associada ao $1,25(\text{OH})_2D_3$ nas rações tenha atendido a demanda fisiológica das aves.

Tabela 1. Peso in natura, comprimento, diâmetros, Índice Seedor e resistência à quebra dos ossos de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo ou não suplemento de 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo (1,25(OH)₂D₃) de origem vegetal e níveis reduzidos de cálcio (Ca) e fósforo disponível (P_{disp})

	Osso	Tratamentos						CV
		T1	T2	T3	T4	T5	T6	
% redução de Ca e P _{disp}		0,00	0,00	15,00	15,00	30,00	30,00	
µg 1,25(OH) ₂ D ₃ /kg de ração		0,00	0,50	0,00	0,50	0,00	0,50	
Variável	Osso	T1	T2	T3	T4	T5	T6	CV
Tíbias								%
Peso da ave (g) ^{ns}	-	220,94	218,19	226,22	220,75	220,97	233,01	5,60
Peso in natura (g) ^{ns}	TD	0,88	0,80	0,82	0,85	0,81	0,82	11,48
Peso in natura (g) ^{ns}	TE	0,87	0,80	0,82	0,83	0,82	0,82	11,52
Comprimento (mm) ^{ns}	TD	50,72	50,40	50,53	50,62	50,76	50,49	3,01
Comprimento (mm) ^{ns}	TE	50,78	50,56	51,11	50,74	50,84	50,50	2,72
Índice Seedor ^{ns}	TD	17,34	15,86	16,22	16,88	15,94	16,24	10,92
Índice Seedor ^{ns}	TE	17,08	15,85	16,09	16,33	16,04	16,30	10,81
Diâmetro horizontal (mm) ^{ns}	TD	2,65	2,72	2,71	2,72	2,67	2,76	6,65
Diâmetro horizontal (mm)*	TE	2,77	2,64	2,74	2,93	2,77	2,87	5,50
Diâmetro vertical (mm) ^{ns}	TD	2,75	2,64	2,72	2,79	2,81	2,82	6,12
Diâmetro vertical (mm) ^{ns}	TE	2,79	2,69	2,71	2,81	2,80	2,81	7,10
Resistência à quebra (kgf) ^{ns}	TD	3,17	3,20	3,50	3,17	2,50	3,00	36,18
Fêmures								
Peso in natura (g)*	FD	0,85	0,76	0,81	0,87	0,76	0,73	10,88
Peso in natura (g) ^{ns}	FE	0,82	0,75	0,81	0,85	0,75	0,75	10,78
Comprimento (mm) ^{ns}	FD	41,07	41,64	41,18	41,61	40,79	40,66	3,46
Comprimento (mm) ^{ns}	FE	40,11	41,68	41,09	41,36	41,11	40,70	3,54
Índice Seedor*	FE	20,48	17,94	19,83	20,55	18,32	18,48	9,65
Diâmetro horizontal (mm) ^{ns}	FD	3,06	2,97	3,08	3,02	3,12	3,02	4,41
Diâmetro horizontal (mm) ^{ns}	FE	3,02	2,97	3,03	3,09	3,04	3,04	4,28
Diâmetro vertical (mm) ^{ns}	FD	2,97	2,97	2,94	3,05	3,03	2,98	6,30
Diâmetro vertical (mm) ^{ns}	FE	3,05	3,19	3,07	3,08	3,20	3,10	8,18

TD = tíbia direita; TE = tíbia esquerda; FD = fêmur direito; FE = fêmur esquerdo; CV = coeficiente de variação; ns = não significativo (p>0,05). *Interação significativa (p<0,05).

Verificou-se interação significativa (p<0,05), % Ca e P_{disp} x 1,25(OH)₂D₃ nas rações para o diâmetro horizontal das tíbias esquerdas, peso in natura dos fêmures direitos e Índice de Seedor (IS) dos fêmures esquerdos (**Tabela 2**). As diferenças nas variáveis biométricas citadas, possivelmente decorreram da remodelação óssea, que intensifica-se com o avançar da idade das aves em postura. De acordo com Mazzuco (2006), poedeiras no final do ciclo de produção, apresentam ossos com maior susceptibilidade a fragilidade óssea, caracterizada por mudanças na estrutura do colágeno, redução na mineralização concomitante ao aumento na reabsorção óssea. A maior reabsorção tem como consequência, decréscimos no segmento estrutural dos ossos.

Tabela 2. Desdobramento da interação nas variáveis métricas dos ossos de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo ou não suplemento de 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo (1,25(OH)₂D₃) de origem vegetal e níveis reduzidos de cálcio (Ca) e fósforo disponível (P_{disp})

Variável	Osso	µg 1,25(OH) ₂ D ₃ /kg de ração	% redução de Ca e P _{disp} nas rações		
			0,00	15,00	30,00
DH ¹ (mm)	TE	0,00	2,77 a A	2,74 a B	2,77 a A
		0,50	2,64 b A	2,93 a A	2,87 a A
PIN ² (g)	FD	0,00	0,85 a A	0,81 a A	0,76 a A
		0,50	0,76 b A	0,87 a A	0,73 b A
IS ³	FE	0,00	20,48 a A	19,83 a A	18,32 a A
		0,50	17,94 a B	20,55 a A	18,48 a A

¹DH = diâmetro horizontal; ²PFIN = peso in natura; ³IS = Índice Seedor; TE = tíbia esquerda; FD = fêmur direito; FE = fêmur esquerdo; Médias seguidas letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo Teste Student-Newman-Keuls – SNK (p>0,05).

O IS é utilizado como indicativo da densidade óssea, de modo que, quanto maior esse índice, maior a densidade da peça e vice-versa. Observou-se menor IS (17,94) no tratamento com atendimento das recomendações de Ca e P_{disp} + 1,25(OH)₂D₃ (P<0,05), o decréscimo verificado pode sugerir menor preenchimento da matriz orgânica do osso, pois é a principal medida que exerce influência nessa variável (Stanquevis, 2014).

Vieites et al., (2016) avaliaram 1,25(OH)₂D₃ de origem vegetal para frangos de corte machos, entretanto, em quantidades suplementares maiores, 0,0 até 2,5 µg/kg de ração. Os autores citados mostraram que o IS não foi influenciado pela vitamina nos tibiotarsos das aves aos 21 dias, contudo, nos ossos de 35 dias de idade, houve influência quadrática decrescente, e 1,53 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração foi a dose recomendada para a manutenção da qualidade óssea.

Os resultados da resistência à quebra (RQ) dos tibiotarsos direitos seguiram um padrão semelhante aos resultados das análises de densidade óssea (IS) dos referidos ossos (P>0,05), indicando que a resistência do material relaciona-se com a densidade do mesmo, corroborando com Mayer (2014). Esperava-se a piora na RQ dos ossos mediante as quantidades reduzidas de Ca e P_{disp} nas rações, contudo, isso não ocorreu. O fato observado mostra a possibilidade de uso de redução mineral nas dietas de codornas no final do ciclo de postura.

Ao avaliar 1,25(OH)₂D₃ suplementar nas rações para frangos de corte, sendo esse também advindo de folhas secas de *Solanum glaucophyllum* – SG (10 µg) e extratos purificados (9,50 µg e 37,9 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração) e o metabólito de origem sintética (2,5 µg e 5,0 µg/kg de ração), Bachmann et al., (2013) verificaram que a resistência à ruptura, bem como a rigidez das tíbias foram numericamente maiores

para os tratamentos com a adição do metabólito quando comparado ao controle. As folhas secas de SG apresentaram valores semelhantes àqueles observados com uso de 5,0 µg de vitamina D₃ ativa sintética.

O peso seco e desengordurado (PSD) e os valores de proteínas não colagenosas (PNC) e totais (PT) das tíbias direitas não foram influenciados pelos níveis reduzidos de Ca e P_{disp} e 1,25(OH)₂D₃ nas rações (**Tabela 3**). A menor fração insolúvel em EDTA (PC), na tíbia direita, foi verificada no tratamento com o atendimento das recomendações de Ca e P_{disp} e 1,25(OH)₂D₃ suplementar (p<0,05; 21,03%), enquanto que nos níveis subótimos dos minerais nas dietas foram observados maiores percentuais de PC. Moraes et al., (2010) relataram que o aumento da fração colagenosa e redução de PNC associou-se a redução de anormalidades do tecido ósseo de pintos de corte.

Tabela 3. Peso seco e desengordurado, percentuais de proteínas não colagenosas, colagenosas e totais nos ossos de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo ou não suplemento de 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo (1,25(OH)₂D₃) de origem vegetal e níveis reduzidos de cálcio (Ca) e fósforo disponível (P_{disp})

		Tratamentos						CV
		0,00	0,00	15,00	15,00	30,00	30,00	
% redução de Ca e P _{disp}		0,00	0,00	15,00	15,00	30,00	30,00	
µg 1,25(OH) ₂ D ₃ /kg de ração		0,00	0,50	0,00	0,50	0,00	0,50	
Variável	Ossos	T1	T2	T3	T4	T5	T6	
Tíbias								%
PSD ¹ (g) ^{ns}	TD	0,46	0,44	0,42	0,45	0,41	0,40	17,67
PNC ² (%) ^{ns}	TD	0,33	0,41	0,35	0,30	0,32	0,35	28,92
PC ³ (%) [*]	TD	22,22	21,03	23,14	23,81	22,59	24,34	10,01
PT ⁴ (%) ^{ns}	TD	22,55	21,44	23,49	24,11	22,91	24,69	10,06
Fêmures								
PSD ¹ (g) [*]	FD	0,47	0,39	0,44	0,46	0,36	0,37	17,51
PNC ² (%) [*]	FD	0,27	0,43	0,32	0,26	0,37	0,40	27,22
PC ³ (%) [*]	FD	21,54	26,12	23,37	20,83	25,06	25,80	15,24
PT ⁴ (%) [*]	FD	21,81	26,55	23,69	21,09	25,43	26,20	15,25

¹PSD = peso seco e desengordurado; ²PNC = proteínas não colagenosas; ³PC = proteínas colagenosas;

⁴PT = proteínas totais; TD = tíbia direita; FD = fêmur direito; CV = coeficiente de variação;

ns = não significativo (p>0,05). *Interação significativa (p<0,05).

As propriedades ósseas relacionam-se pela interação entre os constituintes principais: água, minerais e colágeno. O modo pelo qual esses componentes estão arranjados na matriz determina a qualidade óssea. O colágeno, quando em proporções adequadas permite que os ossos sofram flexão sem se quebrarem, suportem maior carga, independente da rigidez produzida pelos cristais de hidroxiapatita (Currey, 2003; Müller et al., 2012).

Ao considerar que a RQ e as quantidades de PNC nas tíbias não foram alteradas e que os valores de PC observados nessa avaliação estão em conformidade com o descrito por Junqueira e Carneiro (2004) para composição orgânica da matriz extracelular óssea, pode-se inferir que não houve comprometimento da qualidade óssea das aves arraçadas com os níveis subótimos de Ca e P_{disp} e adição de $1,25(OH)_2D_3$.

No presente estudo, apesar da modificação verificada no percentual de proteínas colagenosas não houve interferência na resistência óssea. Knott e Bailey (1999) citados por Araújo et al., (2011) afirmaram que alterações na matriz colagenosa estão direta e indiretamente relacionadas com as mudanças na propriedade mecânica do osso. Ainda, não apenas a quantidade do colágeno pode interferir na resistência óssea, mas também as ligações cruzadas entre cadeias de colágenos à medida que os animais vão ficando mais velhos (Rath et al., 1999; Currey, 2003; Barbosa et al., 2010).

Houve interação significativa entre os níveis de Ca e P_{disp} x $1,25(OH)_2D_3$ adicional nas rações, para as quantidades de PC, PNC e PT ($p < 0,05$), nos fêmures direitos, que foram menores nos tratamentos com níveis reduzidos em 15% nas recomendações de Ca e P_{disp} nas rações (**Tabela 4**).

Tabela 4. Desdobramento da interação nas variáveis proteicas dos ossos de codornas japonesas alimentadas com ração contendo ou não suplemento de 1,25-dihidroxitamina- D_3 -glicosídeo ($1,25(OH)_2D_3$) de origem vegetal e níveis reduzidos de cálcio (Ca) e fósforo disponível (P_{disp})

Variável	Osso	μg $1,25(OH)_2D_3$ / kg de ração	% redução de Ca e P_{disp} nas rações		
			0,00	15,00	30,00
PC ¹ (%)	TD	0,00	22,22 a A	23,14 a A	22,59 a A
		0,50	21,03 b A	23,81 a A	24,34 a A
PSD ² (%)	FD	0,00	0,47 a A	0,44 ab B	0,36 b A
		0,50	0,39 a B	0,46 a A	0,37 a A
PNC ³ (%)	FD	0,00	0,27 a B	0,32 a A	0,37 a A
		0,50	0,43 a A	0,26 b A	0,40 a A
PC ¹ (%)	FD	0,00	21,54 a B	23,37 a A	25,06 a A
		0,50	26,12 a A	20,83 b A	25,80 a A
PT ⁴ (%)	FD	0,00	21,81 a B	23,69 a A	25,43 a A
		0,50	26,55 a A	21,09 b A	26,20 a A

¹PC = proteínas colagenosas; ²PSD = peso seco e desengordurado; ³PNC = proteínas não colagenosas;

⁴PT = proteínas totais; Médias seguidas letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo Teste Student-Newman-Keuls – SNK ($p > 0,05$).

A alteração na composição orgânica dos fêmures, caracterizada pelas menores frações de PNC, no nível reduzido em 15% nas recomendações de Ca e P_{disp} com a vitamina D_3 ativa, pode evidenciar o resultado mais desejável. Moraes et al., (2010) mencionaram que animais com alta incidência de problemas locomotores apresentaram

maiores teores de PNC, sendo que as altas concentrações dessas proteínas podem estar relacionadas à fragilidade do osso, por interferir na completa mineralização.

É importante considerar que o tecido ósseo mantém intensa e intermitente atividade metabólica alternando processos de reabsorção e formação, os quais promovem constante remodelação. A remodelação exige substituição dos componentes ósseos, onde fatores hormonais, como os mediados pelo PTH e $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ participam deste processo homeostático (Avolio et al., 2008).

O conteúdo mineral das tíbias das codornas japonesas não foi influenciado pelas reduções de Ca e P_{disp} e/ou oferta de vitamina D_3 ativa (**Tabela 5**). Aliado ao fato de que os valores recomendados de Ca e P_{disp} possivelmente estão elevados, há de considerar que a quantidade suplementar de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ estudada tenha sido insuficiente para promover alteração na retenção mineral nos referidos ossos. Sheikhlar e Navid (2009) investigaram as características ósseas de codornas de corte até três semanas de idade, que receberam dietas com adição de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e deficientes em Ca (0,71%) e P (0,37%) e constataram que $6,5 \mu\text{g}$ de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aumentou a concentração de cinzas e Ca nos ossos das aves.

Tabela 5. Conteúdo mineral nos ossos de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo ou não suplemento de 1,25-dihidroxitamina- D_3 -glicosídeo ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) de origem vegetal e níveis reduzidos de cálcio (Ca) e fósforo disponível (P_{disp})

		Tratamentos						CV
		0,00	0,00	15,00	15,00	30,00	30,00	
% redução de Ca e P_{disp}		0,00	0,00	15,00	15,00	30,00	30,00	
$\mu\text{g } 1,25(\text{OH})_2\text{D}_3/\text{kg}$ de ração		0,00	0,50	0,00	0,50	0,00	0,50	
Variável	Osso	T1	T2	T3	T4	T5	T6	
Tíbias								%
PSD ¹ (g) ^{ns}	TE	0,50	0,45	0,45	0,44	0,44	0,42	17,79
Cinzas (g) ^{ns}	TE	0,21	0,18	0,18	0,19	0,19	0,18	17,81
Cinzas (%) ^{ns}	TE	38,72	38,64	37,76	40,42	40,26	40,33	12,08
Cálcio (%) ^{ns}	TE	32,04	43,01	34,85	35,06	37,55	34,89	28,95
Fósforo (%) ^{ns}	TE	13,66	17,61	15,82	15,79	16,87	16,09	26,69
Ca:P ^{ns}	TE	2,39	2,43	2,20	2,18	2,22	2,17	9,32
Fêmures								
PSD ¹ (g)*	FE	0,51	0,43	0,47	0,43	0,38	0,38	19,37
Cinzas (g) *	FE	0,36	0,30	0,30	0,33	0,24	0,23	22,89
Cinzas (%)*	FE	64,47	61,70	59,61	61,80	58,04	56,39	6,77

¹PSD = peso seco e desengordurado; TE = tíbia esquerda; FE = fêmur esquerdo; CV = coeficiente de variação; ns = não significativo ($p > 0,05$). *Interação significativa ($p < 0,05$).

As relações Ca:P observadas nesse experimento foram próximas da relatada por Thorp e Waddington (1997) e Field (2000) como ótima para normal mineralização dos ossos, de 2:1. Tal resultado seguiu o comportamento da RQ, e corrobora com os autores

mencionados. Se houver quebra na estrutura do cristal de hidroxiapatita, os ossos tornam-se mais frágeis e susceptíveis a fraturas.

Os níveis subótimos de Ca e P_{disp} estudados (15 e 30%) influenciaram o percentual de cinzas e o peso seco e desengordurado (PSD) dos fêmures esquerdos ($p < 0,05$; **Tabela 6**). Todavia, a adição da vitamina D_3 ativa não influenciou as referidas variáveis nos fêmures. Os resultados estão de acordo com o relatado por Field (2000), que deficiências em Ca e P dietético podem ocasionar a redução do conteúdo de cinzas.

Tabela 6. Desdobramento da interação nas variáveis ósseas de codornas japonesas alimentadas com ração contendo ou não suplemento de 1,25-dihidroxitamina- D_3 -glicosídeo ($1,25(\text{OH})_2D_3$) de origem vegetal e níveis reduzidos de cálcio (Ca) e fósforo disponível (P_{disp})

Variável	Osso	$\mu\text{g } 1,25(\text{OH})_2D_3/\text{kg de ração}$	% redução de Ca e P_{disp} nas rações		
			0,00	15,00	30,00
PSD ¹ (%)	FE	0,00	0,51 a A	0,47 ab A	0,38 b A
		0,50	0,43 a A	0,43 a A	0,38 a A
Cinzas (g)	FE	0,00	0,36 a A	0,30 ab A	0,24 b A
		0,50	0,30 ab A	0,33 a A	0,23 b A
Cinzas (%)	FE	0,00	64,47 a A	59,62 b A	58,04 b A
		0,50	61,70 a A	61,79 a A	56,39 a A

¹PSD = peso seco e desengordurado. Médias seguidas letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo Teste Student-Newman-Keuls – SNK ($p > 0,05$).

Cabe salientar que a maioria das diferenças entre tratamentos foram verificadas nas variáveis dos fêmures das aves, tais resultados são decorrentes da sequência de maturação óssea, que apresenta desenvolvimento centrípeto, com gradiente de amadurecimento distal para proximal nos ossos dos membros (Barbosa et al., 2010; Müller et al., 2012). Assim, a velocidade de mineralização e outros aspectos de desenvolvimento do fêmur ocorrem mais lentamente que na tíbia, uma vez que está mais próximo do centro do corpo. Assim, em termos metabólicos torna-se difícil detectar diferenças nas tíbias das aves.

Conclusões

A composição orgânica e mineral dos ossos de codornas japonesas em postura com 61 semanas de idade alterou-se mediante o recebimento de níveis reduzidos em 15 e 30% dos valores recomendados para Ca e P_{disp} e $1,25(\text{OH})_2D_3$ de origem vegetal nas rações. Foram observadas modificações na fração colagenosa dos ossos, contudo, a matriz óssea se manteve estável (RQ).

Referências

- AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL ENGINEERS. **ASAE Standard S459. Shear and three-point bending test of animal bone**. Saint Joseph: ASAE, p. 581-583, 1998.
- ARAÚJO, G.M.; VIEITES, F.M.; BARBOSA, A.A. et al. Variação aniônica da dieta sobre características ósseas de frangos de corte: resistência à quebra, composição orgânica e mineral. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.4, p.954-961, 2011.
- AVOLIO, G.; BRANDÃO, C.M.A.; OLIVEIRA, J.X. et al. O papel da vitamina D₃ e da osteocalcina no metabolismo ósseo: uma análise necessária para se otimizar a osseointegração. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, v.26, n.3, p.347-350, 2008.
- BACHMANN, H.; AUTZEN, S.; FREY, U. et al. The efficacy of a standardised product from dried leaves of *Solanum glaucophyllum* as source of 1,25-dihydroxycholecalciferol for poultry. **British Poultry Science**, v.54, n.5, p.642-652, 2013.
- BAR, A. Calcium homeostasis and vitamin D metabolism and expression in strongly calcifying. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v.151, p.477-490, 2008.
- BARBOSA, A.A.; MORAES, G.H.K.; TORRES, R.A. et al. Avaliação da qualidade óssea mediante parâmetros morfométricos, bioquímicos e biomecânicos em frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.772-778, 2010.
- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, n.2, p.248-254, 1976.
- BRAGA, J.F.V.; PREIS, I.S.; VASCONCELOS, R.J.C. et al. Osteoporose em poedeiras comerciais em diferentes fases de postura. **Veterinária em Foco**, v.10, n.1, p.93-102, 2012.
- CARVALHO, L.S.S.; FERNANDES, E.A. Formação e qualidade da casca de ovos de reprodutoras e poedeiras comerciais. **Medicina Veterinária**, v.7, n.1, p.35-44, 2013.
- CURREY, J.D. Role of collagen and other organics in the mechanical properties of bone. **Osteoporos International**, v.14, (Supl.5), p.29-36, 2003.
- FAITARONE, A.B.G.; GARCIA, E.A.; ARTONI, S.M.B. et al. Qualidade óssea de poedeiras comerciais leves alimentadas com rações suplementadas com diferentes óleos vegetais. **Veterinária e Zootecnia**, v.19, n.3, p.356-365, 2012.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência & Agrotecnologia**, v.38, n.2, p.109-112, 2014.
- FIELD, R.A. Ash and calcium as measures of bone in meat and bone mixtures. **Meat Science**, v.55, n.3, p.255-264, 2000.

FLEMING, R.H. Nutritional factors affecting poultry bone health. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.67, p.177-183, 2008.

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

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 427p.

MAYER, A.N. **Granulometrias do calcário calcítico e redução do cálcio dietético para frangos de corte**. Dissertação [Mestrado em Zootecnia]. Lavras-MG: UFLA, 2014. 95p.

MAZZUCO, H. **Osteoporose em poedeiras comerciais: uma doença metabólica multifatorial**. Concórdia-SC: Embrapa Suínos e Aves, 2005. 8p. [Circular Técnica, 43]

MAZZUCO, H. **Avaliação da mineralização óssea e qualidade da casca em poedeiras comerciais submetidas a um programa alternativo de muda induzida**. Concórdia-SC: Embrapa Suínos e Aves, 2006. 8p. [Circular Técnica, 48]

MORAES, G.H.K.; RODRIGUES, A.C.P.; SILVA, F.A. et al. Efeito do ácido L-glutâmico e da vitamina K na composição química parcial de fêmures de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.4, p.796-800, 2010.

MÜLLER, E.S.; BARBOSA, A.A.; MORAES, G.H.K. et al. Parâmetros químicos, bioquímicos e mecânicos de fêmures de frangos de corte submetidos a diferentes balanços eletrolíticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.6, p.1454-1462, 2012.

OLIVEIRA, A.F.G.; BRUNO, L.D.G.; MARTINS, E.N. et al. Efeito da densidade de criação e do grupo genético sobre a composição mineral e desenvolvimento de ossos longos de frangos de corte. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.2, p.1023-1034, 2014.

RATH, N.C.; BALOG, J.M.; HUFF, W.E. et al. Comparative differences in the composition and biomechanical properties of tibiae of seven-and seventy-two-week-old male and female broiler breeder chickens. **Poultry Science**, v.78, n.8, p.1232-1239, 1999.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 3.ed. Belo Horizonte-MG: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2010. 264p.

SEEDOR, J.G.; QUARRACCIO, H.H; THOMPSON, D.D. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. **Bone and Mineral Research**, v.6, p.339-346, 1991.

SHEIKHLAR, A. NAVID, S. Effect of dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol concentration on growth performance and bone characteristics of Japanese quail fed diet deficient in calcium and phosphorus. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.8, n.10, p.1517-1520, 2009.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos.** 3.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 235p.

STANQUEVIS, C.E. **Níveis de suplementação de vitamina A e vitamina K para codornas de corte em crescimento.** Dissertação [Mestrado em Zootecnia]. Maringá-PR: UEM, 2014. 78p.

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

VIEITES, F.M.; DROSGHIC, L.C.A.B.; SOUZA, C.S. et al. Bone characteristics of broiler chickens fed diets supplemented with *Solanum glaucophyllum*. **Semina: Ciências Agrárias**, v.37, n.1, p.381-392, 2016. DOI: 10.5433/1679-0359.2016v37n1p381.

WATKINS, B.A.; LIPPMAN, H.E.; BOUTEILLER, L.L.; LI, Y.; SEIFERT, M.F. Bioactive fatty acids: role in bone biology and bone cell function. **Progress in Lipid Research**, v.40, p.125-148, 2001.

Capítulo 5

Bioquímica sérica de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo níveis reduzidos de cálcio e fósforo disponível e suplemento de 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Bioquímica sérica de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo níveis reduzidos de cálcio e fósforo disponível e suplemento de 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Resumo: Objetivou-se estudar a bioquímica sérica de codornas japonesas em postura alimentadas com ração suplementada com 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo (1,25(OH)₂D₃) de origem vegetal associado ou não aos níveis de cálcio (Ca) e fósforo disponível (P_{disp}) reduzidos. Dois experimentos foram conduzidos, sendo o primeiro num delineamento em blocos casualizados, com cinco tratamentos (0,0; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração), seis repetições e seis aves por unidade experimental. O segundo experimento foi num delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3x2), com seis tratamentos [1) ração basal (RB); 2) RB + 0,50 µg de 1,25(OH)₂D₃; 3) RB com redução em 15,0% de Ca e P_{disp}; 4) T3 + 0,50 µg de 1,25(OH)₂D₃; 5) RB com redução em 30,0% de Ca e P_{disp}; e 6) T5 + 0,50 µg de 1,25(OH)₂D₃], seis repetições e seis aves por unidade experimental. As análises foram realizadas em equipamento analisador bioquímico automático, por meio de testes de kits comerciais. A quantificação de albumina (A), proteínas totais (PT) e cálcio (Ca) foi por colorimetria, o fósforo (P) por ultravioleta de ponto final e das enzimas transaminases (ALT e AST) e fosfatase alcalina (FA) por método cinético. A quantidade de globulinas (G) foi obtida pela diferença da concentração de PT pela de A. Não houve alteração nos componentes sanguíneos (PT, A, G e relação A:G), bem como nos minerais (Ca, P e relação Ca:P) e nas transaminases (ALT e AST) das codornas japonesas em postura nos dois ensaios experimentais. A suplementação até 1,0 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração influenciou a atividade da FA, que foi aumentada mediante a adição do metabólito. É possível reduzir em 15% e 30% o Ca e o P_{disp} nas rações de codornas japonesas pós-pico de postura, utilizando ou não o metabólito 1,25(OH)₂D₃, sem que haja o comprometimento significativo da bioquímica sérica das aves.

Palavras-chave: Coturnix coturnix japonica, fosfatase alcalina, metabolismo, minerais séricos, transaminases

Serum biochemistry of laying Japanese quail fed rations with lower levels of calcium and phosphorus available and supplement 1,25-dihydroxyvitamin-D₃-glycoside of plant origin

Abstract: It was to study the serum biochemistry of laying Japanese quail fed with rations containing supplement of 1,25-dihydroxyvitamin D₃-glycoside (1,25(OH)₂D₃) of plant origin with or without the levels of calcium (Ca) and phosphorus available (A_P) reduced. Two experiments were conducted, the first in a randomized block design with five treatments (0.0; 0.25; 0.50; 0.75 and 1.00 μg 1,25(OH)₂D₃/kg of diet), six replicates and six birds each. The second experiment was a completely randomized design in a factorial scheme (3x2), with six treatments [1) basal diet (BD); 2) BD + 0.50 μg of 1,25(OH)₂D₃; 3) BD with reduction of 15.0% Ca and A_P; 4) T3 + 0.50 μg 1,25(OH)₂D₃; 5) BD with reduction of 30.0% Ca and A_P; and 6) T5 + 0.50 μg of 1,25(OH)₂D₃], six replicates and six birds per experimental unit. The analyzes were performed in automatic biochemical analyzer equipment, with the commercial test kits. The quantification albumin (A), total protein (TP) and calcium (Ca) by colorimetry, phosphorus (P) by ultraviolet endpoint and enzymes transaminases (ALT and AST) and alkaline phosphatase (AP) by a kinetic method. The amount of globulin (G) was obtained by the difference in the concentration between TP and A. There was no change in the blood components (TP, A, G and A:G ratio) and minerals (Ca, P and Ca:P ratio) and in transaminases (ALT and AST) of Japanese laying quails in two experimental trials. The supplementation to 1.0 μg 1,25(OH)₂D₃/kg diet influenced AP activity, which was enhanced by the addition of the metabolite. It can reduce by 15% and 30% Ca and A_P in feed post-peak production Japanese quail, with or without the metabolite 1,25(OH)₂D₃, without significant impairment change in serum biochemistry of birds.

Keywords: alkaline phosphatase, *Coturnix coturnix japonica*, metabolism, serum minerals, transminases

Introdução

As provas laboratoriais do sangue podem servir como importante ferramenta para auxiliar no monitoramento da saúde, diagnóstico e tratamento de doenças, bem como avaliação do estado fisiológico de aves de produção (Barbosa et al., 2011). Na atualidade, os sistemas produtivos avícolas buscam eficiência econômica, caracterizada pelo melhor desempenho, produção ao menor custo possível aliada ao bem-estar dos animais.

Inúmeros programas nutricionais vêm sendo estudados, objetivando reduzir os custos, bem como minimizar os impactos ambientais, por meio do suplemento exato de nutrientes aos animais. Dentre tais nutrientes, têm-se as vitaminas, que são essenciais para o desenvolvimento animal, uma vez que participam como cofatores em reações metabólicas e permitem maior eficiência dos sistemas de síntese e no organismo animal (Souza et al., 2013).

As aves apresentam capacidade limitada de síntese de vitaminas, desse modo, o suplemento vitamínico nas dietas pode possibilitar a melhora no desempenho. A vitamina D, que em sua forma colecalciferol (D₃) para galinhas é requerida para o adequado metabolismo do cálcio (Ca) e fósforo (P), na formação e fortalecimento dos ossos e produção dos ovos (Faria et al., 2000; Salvador et al., 2009).

A vitamina D₃ tem diversas funções na fisiologia do metabolismo mineral das aves, incluindo a manutenção da concentração do Ca e P sanguíneo, estímulo a absorção intestinal e reabsorção nos rins, bem como incorporação dos referidos minerais na matriz óssea (Sepúlveda e Rosales, 2014). Ainda, regula a secreção de paratormônio e estimula vários tecidos receptores da vitamina (Garcia et al., 2013).

Os perfis bioquímicos séricos podem ser utilizados para avaliar e monitorar a condição nutricional e metabólica dos animais, servindo também como indicador dos processos adaptativos do organismo, no metabolismo energético, proteico e mineral, além de oferecer subsídios na interpretação do funcionamento hepático (González e Silva, 2006).

No diagnóstico clínico de diversas alterações metabólicas, destacam-se as transaminases: alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e a fosfatase alcalina (FA). A elevação dos níveis séricos das referidas enzimas têm sido atribuída à disfunção hepática, que pode ser decorrente da ruptura dos hepatócitos, resultante de necroses ou das alterações de permeabilidade da membrana celular (ALT e AST) e de formação óssea (FA) (Stanquevis et al., 2015).

Objetivou-se estudar a bioquímica sérica de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo suplemento de 1,25-dihidroxitamina D₃-glicosídeo de origem vegetal associado ou não aos níveis de Ca e P disponível reduzidos.

Material e Métodos

As informações acerca dos delineamentos estatísticos adotados, descrição dos tratamentos, número de animais, rações e demais condições experimentais, foram descritas nos **Capítulo 1 e 3**, para os experimentos 1 e 2, respectivamente.

No término de cada experimento, o sangue de seis aves (repetições), com peso médio, de cada tratamento foi coletado, acondicionado em tubo de ensaio; e centrifugado 3000 rpm por 15 minutos para a obtenção do soro, e então, armazenado a x-20°C até o momento das análises.

As análises foram realizadas no Laboratório de Fisiologia e Reprodução Animal/DZO/UFV, utilizando-se equipamento analisador bioquímico automático Mindray, modelo BSE200E[®], por meio de testes de kits comerciais (Bioclin[®], Belo Horizonte-MG, Brasil). A quantificação de albumina (K040[®]), proteínas totais (K031[®]) e cálcio (K051[®]) foi por colorimetria, a de fósforo (K068[®]) por UV de Ponto Final e das enzimas alalina aminotransferase – ALT (K049[®]), aspartato aminotransferase – AST (K048[®]) e fosfatase alcalina (K021[®]) por método cinético.

A quantidade de globulinas foi obtida pela diferença da concentração das proteínas totais e da albumina. A relação albumina:globulina (A:G) foi obtida pela divisão da concentração de albumina pela de globulina. A relação cálcio: fósforo (Ca:P) foi obtida pela divisão da concentração do Ca pela do P.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância de acordo com o esquema experimental de cada experimento, considerando o nível de 5,0% de probabilidade, seguindo as recomendações de Sampaio (2010). O software utilizado foi o SISVAR, versão 5.6, Build 86, (Ferreira, 2014).

Resultados e Discussão

Não houve alteração nos componentes sanguíneos, proteínas totais (PT), albumina (A), globulinas (G) e relação A:G, bem como nos minerais, Ca e P e relação Ca:P das codornas japonesas alimentadas com ração contendo suplemento de 1,25-dihidroxitamina D₃ de origem vegetal (**Tabela 1**). Os resultados assemelham-se aos obtidos por Turgut et al., (2006), que estudaram os efeitos da suplementação de vitamina D e diferentes níveis e tipos de gordura para aves Lohman (30 a 40 semanas de

idade). Esses autores verificaram que as concentrações de PT, bem as de Ca e P séricos não foram afetadas pelos tratamentos.

A dosagem máxima suplementar do metabólito ativo da vitamina D₃ (1,0 µg 1,25(OH)₂D₃/kg de ração) avaliada não foi capaz de gerar hipercalcemia e/ou hiperfosfatemia. De acordo com Mello-Silva et al., (2006) o excesso do glicosídeo esteroidal contendo 1,25(OH)₂D₃ no organismo por via exógena produz aumento na concentração da proteína de ligação do Ca, sendo absorvidos mais íons de Ca e P, promovendo hipercalcemia e hiperfosforemia.

Tabela 1. Bioquímica sérica de codornas japonesas em postura na 47^a. semana de idade alimentadas com ração contendo suplemento de 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

Variável	µg 1,25-dihidroxitamina-D ₃ / kg de ração					CV (%)
	0,00	0,25	0,50	0,75	1,00	
Componentes						
Proteínas totais (g/dL) ^{ns}	3,95	4,36	4,42	4,25	4,21	13,12
Albumina (g/dL) ^{ns}	1,75	1,86	1,82	1,77	1,89	11,00
Globulinas (g/dL) ^{ns}	2,19	2,51	2,60	2,47	2,32	17,52
Albumina: Globulinas ^{ns}	0,80	0,74	0,70	0,72	0,81	15,51
Minerais						
Cálcio (mg/dL) ^{ns}	28,93	28,45	29,85	26,75	30,97	21,68
Fósforo (mg/dL) ^{ns}	10,40	10,95	11,15	9,72	12,32	33,68
Ca:P ^{ns}	2,78	2,60	2,68	2,75	2,51	23,05
Enzimas						
AST ¹ (U/L) ^{ns}	290,50	389,33	382,00	353,00	341,67	23,99
ALT ² (U/L) ^{ns}	13,00	13,00	12,33	12,83	13,83	31,73
Fosfatase alcalina (U/L) ^L	483,67	548,00	521,67	619,50	594,00	39,21

¹AST = aspartato aminotransferase; ²ALT = alanina aminotransferase; CV = Coeficiente de variação; ns = não significativo (P>0,05). L = efeito linear - $\hat{Y} = 116,87x + 494,93$ ($r^2 = 0,72$).

Ross et al., (1971) observaram hipercalcemia em frangos de corte alimentados por três semanas com *Solanum glaucophyllum* – SG (5 g/kg de ração), entretanto, os valores de P no sangue se mantiveram, tal fato decorreu das quantidades relativamente elevadas de Ca e P nas dietas. A normalização da calcemia verificada pode ser decorrente da falta de necessidade de mobilização de Ca do osso, uma vez que a vitamina D aumenta a absorção de Ca intestinal, induzindo a síntese de proteína ligadora de Ca (Cañas et al., 1977).

Observou-se efeito significativo dos tratamentos na atividade da fosfatase alcalina (FA), que apresentou comportamento linear crescente (**Figura 1**). Tal resultado possivelmente decorreu de alterações nas atividades osteoblásticas e formação da casca do ovo. Segundo Rajman et al., (2006), a FA tem estreita ligação ao metabolismo do Ca e P, e sua elevação parece estar relacionada com a ação aumentada de osteoblastos e

condrogênicas. Em aves de postura, a FA tem pequena atividade no fígado e o aumento desta enzima sugere relação com a da atividade osteoblástica e mudanças ósseas, tais como crescimento, osteomielite, hiperparatireodismo secundário nutricional e neoplasia (Harr, 2002; Barbosa et al., 2011).

Bachmann et al., (2013) descreveram maior atividade de FA no soro de aves alimentadas com 20 μg $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3/\text{kg}$ de ração. Desse modo, no experimento 2, semelhantemente ao justificado nos valores de Ca e P, a adição do metabólito ativo da vitamina D nas dietas não foi capaz de gerar alteração na atividade sérica de FA. As observações corroboram com as de Rajman et al., (2006), cujos padrões comportamentais de FA assemelharam-se aos observados para Ca e P no plasma. Ainda, os valores de FA verificados nos experimentos estão na faixa de normalidade (531 U/L), conforme o descrito Bachmann et al., (2013).

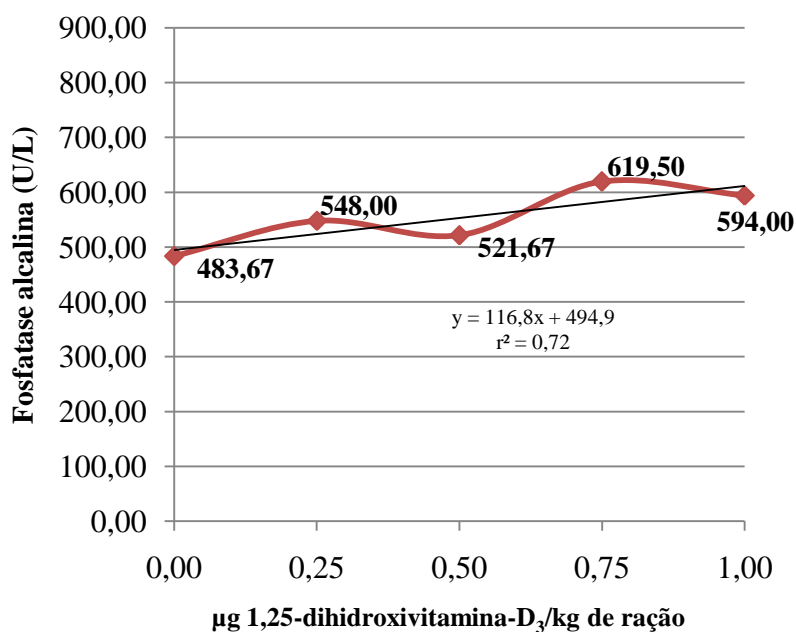


Figura 1. Fosfatase alcalina sérica de codornas japonesas em postura alimentadas com ração contendo suplemento de 1,25-dihidroxitamina- D_3 -glicosídeo de origem vegetal

No segundo experimento, de modo similar ao verificado no primeiro ensaio, não foram identificados quaisquer efeitos dos níveis reduzidos de Ca e P_{disp} e suplemento de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nas dietas sob os componentes, minerais e enzimas séricas das aves (**Tabela 2**). O European Food Safety Authority – EFSA (2015) descreveu um estudo com 2.700 galinhas poedeiras (Lohmann – LSL, com 53 semanas de idade) alimentadas

com SG de origem vegetal, o mesmo produto estudado nesse trabalho (0,0; 2,0; 5,0 e 20 μg 1,25(OH)₂D₃/kg de ração). As quantidades de Ca e P plasmáticos, bem como as variáveis de desempenho produtivo não foram influenciadas pelo metabólito, exceto P e FA que foram maiores no fornecimento de 20 μg 1,25(OH)₂D₃/kg de ração.

Os valores de Ca séricos verificados no experimento 1 (28,99 mg/dL) e no experimento 2 (26,26 mg/dL) assemelham-se aos descritos por Junqueira et al., (2002), que foi em média 25,36 mg/dL para poedeiras Hy-Line W36 com 60 semanas de idade, recebendo dietas atendendo as necessidades nutricionais. As concentrações normais de cálcio nas aves podem atingir valores muitos superiores aos tolerados nas espécies de mamíferos, podendo chegar a 30 g/L (Thrall et al., 2004). Tais valores estão relacionados aos estádios reprodutivos das poedeiras, quando acontece o transporte de cálcio para o ovário, induzido por estrógenos, mediante o aumento na produção de proteínas ligadoras de cálcio, tais como a vitelogenina e a albumina (Harr, 2002; Capitelli e Crosta, 2013; Vila, 2013).

Tabela 2. Bioquímica sérica de codornas japonesas em postura na 61^a. semana de idade alimentadas com ração contendo suplemento níveis reduzidos de cálcio (Ca) e fósforo disponível (P_{disp}) e suplemento de 1,25-dihidroxitamina-D₃-glicosídeo de origem vegetal

% redução de Ca e P _{disp} μg 1,25(OH) ₂ D ₃ /kg de ração	Tratamentos						CV
	0,00	0,00	15,00	15,00	30,00	30,00	
Variável	T1	T2	T3	T4	T5	T6	
Componentes							(%)
Proteínas totais (g/dL) ^{ns}	4,10	4,20	4,43	4,15	4,15	3,84	11,87
Albumina (g/dL) ^{ns}	1,82	1,81	1,93	1,84	1,85	1,66	10,42
Globulinas (g/dL) ^{ns}	2,28	2,39	2,52	2,32	2,30	2,17	16,92
Albumina:Globulinas ^{ns}	0,80	0,76	0,77	0,79	0,80	0,76	18,76
Minerais							
Cálcio (mg/dL) ^{ns}	28,13	24,97	26,80	23,77	25,92	21,99	19,05
Fósforo (mg/dL) ^{ns}	9,85	7,97	9,20	8,60	10,10	7,78	28,89
Ca:P ^{ns}	2,85	3,13	2,92	2,76	2,57	2,83	19,91
Enzimas							
AST ¹ (U/L) ^{ns}	351,00	320,00	327,83	355,00	364,67	323,67	24,54
ALT ² (U/L) ^{ns}	15,83	13,67	14,00	14,50	16,50	14,02	27,76
Fosfatase alcalina (U/L) ^{ns}	514,50	444,50	569,67	618,50	718,67	479,83	37,27

¹AST = aspartato aminotransferase; ²ALT = alanina aminotransferase; CV = Coeficiente de variação; ns = não significativo (P>0,05).

No que se refere à concentração de proteínas totais, nas espécies aviárias costuma ser menor quando comparada a de mamíferos, variando entre 2,5 e 4,5 g/dL. Os valores médios normais de albumina variam de 0,8 a 2,0 g/dL, e a relação A:G, 0,84 (Harr, 2002; Bacila, 2003; Schmidt et al., 2007; Carvalho et al., 2013; Vila, 2013). Os

valores verificados nos ensaios experimentais realizados para PT, A, A:G estão dentro da faixa considerada de normalidade.

As transaminases (ALT e AST) não foram alteradas mediante o suplemento vitamínico e/ou redução dos níveis de Ca e P_{disp} dietéticos. Os valores observados para as referidas enzimas foram maiores que os observados por Al-Daraji et al., (2010) para codornas japonesas, de 240,2 U/L para AST e 12,12 U/L para ALT; e de 204,0 U/L para AST (aves do grupo controle) segundo Eraslan et al., (2004). Scholtz et al., (2009) quantificaram AST de 243 - 562 U/L e de 4,5 - 8,5 U/L para ALT, no soro de codornas japonesas na 16^a. semana de idade. As concentrações de ALT em galinhas são baixas, uma vez que esta enzima está presente em alta concentração no rim e no coração, musculatura esquelética, fígado e pulmão (Barbosa et al., 2011). As variações nos níveis séricos das diferentes enzimas em relação aos resultados de outros autores podem estar relacionadas aos kits comerciais, aparelhagem usada, método de colheita de amostras e obtenção do soro.

A calcemia e a fosfatemia normal das aves verificada nos dois experimentos conduzidos distingue-se dos resultados de Cheng et al., (2004), que estudaram frangos de corte também alimentados com rações com diferentes níveis Ca e P e adição de *Solanum glaucophyllum* - SG (1,0; 2,5 e 5,0 g/kg) ou $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ração). Os autores citados verificaram aumento na concentração sanguínea de Ca e fosfato e na absorção intestinal de P. A absorção melhorada decorreu do aumento de transcrição de DNA para RNA e aumento da síntese de proteínas no lado luminal do epitélio intestinal.

As relações Ca:P verificadas nos experimentos 1 e 2 foram superiores àquela relatada por Duarte et al., (2012), de 2,39:1 para poedeiras Dekalb Warren com 30 semanas de idade. No segundo experimento, esperava-se alteração nos valores séricos de P, entretanto, não foi observado esse comportamento. Choi et al., (1979) evidenciaram que o fósforo plasmático decresce drasticamente quando níveis subótimos de fósforo dietéticos são administrados e que as poedeiras mantêm um nível de P plasmático proporcional ao conteúdo de P na dieta. Desse modo, pode-se inferir que os valores de Ca e P_{disp} fornecidos estavam em conformidade com a necessidade fisiológica das aves nas condições estudadas.

Conclusões

A suplementação até 1,0 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração para codornas japonesas em postura na 47^a. semana de idade não alterou PT, A, G, e a relação A:G e os teores séricos de Ca, P e a relação Ca:P. As enzimas AST e ALT não foram influenciadas, entretanto, a atividade da FA foi aumentada mediante a adição do metabólito.

A redução em 15% e 30% nos valores preconizados para Ca e P_{disp} nas rações de codornas japonesas em postura na 61^a. semana de idade, associada ou não ao 1,25(OH)₂D₃ não influenciou a bioquímica sérica das aves.

Referências

- AL-DARAJI, H.J.; AL-HASSANI, A.S.; AL-MASHADANI, H.A. et al. Effect of dietary supplementation with sources of omega-3 and omega-6 fatty acids on certain blood characteristics of laying quail. **International Journal of Poultry Science**, v.9, n.7, p.689-694, 2010.
- BACHMANN, H.; AUTZEN, S.; FREY, U. et al. The efficacy of a standardised product from dried leaves of *Solanum glaucophyllum* as source of 1,25-dihydroxycholecalciferol for poultry. **British Poultry Science**, v.54, n.5, p.642-652, 2013.
- BACILA, M. **Bioquímica veterinária**. 2.ed. São Paulo: Robe Editorial, 2003. 583p.
- BARBOSA, T.S.; MORI, C.K.; POLÔNIO, L.B. et al. Perfil bioquímico sérico de galinhas poedeiras na região de Araçatuba, SP. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.4, p.1583-1588, 2011.
- CAÑAS, F.M.; ORTIZ, O.E.; ASTEGGIANO, C.A. et al. Effects of *Solanum Malacoxylon* extract on rachitic chicks. **Calcified Tissue Research**, v.23, p.297-301, 1977.
- CAPITELLI, R.; CROSTA, L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v.16, n.1, p.71-120, 2013.
- CARVALHO, C.D.; RAMOS, J.A.C.; RAMEH-DE-ALBUQUERQUE, L.C. et al. Perfil hematológico, bioquímico sérico, proteína C reativa e cortisol de ararajubas (*Guaroba guarouba*) mantidas em cativeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.33, n.3, p.394-398, 2013.
- CHENG, Y.H.; GOFF, J.P.; SELL, J.L. et al. Utilizing *Solanum glaucophyllum* alone or phytase to improve phosphorus utilization in broilers. **Poultry Science**, v.83, p.406-413, 2004.

CHOI, J. H.; MILES, R.D.; HARMS, R.H. The response of serum inorganic phosphorus level in laying hens fed low levels of dietary phosphorus. **Poultry Science**, v.58, n.2, p.416-418, 1979.

DUARTE, V.; QUINTINO, V.L.; MINAFRA, C.S. et al. Perfil bioquímico do soro de poedeiras comerciais da linhagem Dekalb Warren no pico de produção. In: I Congresso de Pesquisa e Pós-Graduação do Câmpus Rio Verde do IFGoiano, 06 e 07 de novembro de 2012. **Anais**. Rio Verde-GO, v.1. p.1-3, 2012.

ERASLAN, G.; LIMAN, B.C.; GUCLU, B.K. et al. Evaluation of aflatoxin toxicity in japanese quails given various doses of hydrated sodium calcium aluminosilicate. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulaw**, v.48, p.511-517, 2004.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY – EFSA. Scientific Opinion on the safety of *Solanum glaucophyllum* standardised leaves as feed material. **EFSA Journal**, v.13, n.1, p.3967, 2015.

FARIA, D.E.; JUNQUEIRA, O.M.; SAKOMURA, N.K. et al. Influência de diferentes níveis de energia, vitamina D₃ e relação sódio:cloro sobre o desempenho e a qualidade da casca dos ovos de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.2, p.467-475, 2000.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a guide for its bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência & Agrotecnologia**, v.38, n.2, p.109-112, 2014.

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

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2.ed. Porto Alegre-RS: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006. 364p.

HARR, K.E. Clinical chemistry of companion avian species: a review. **Veterinary Clinical Pathology**, v.31, n.3, p.140-151, 2002.

JUNQUEIRA, O.M.; ANDREOTTI, M.O.; RODRIGUES, E.A. et al. Influência da restrição alimentar sobre alguns constituintes plasmáticos e qualidade da casca dos ovos de poedeiras comerciais. **Acta Scientiarum**, v.24, n.4, p.1021-1025, 2002.

MELLO-SILVA, C.C.; LIMA, M.; PINHEIRO, J. et al. Alterações fisiológicas em *Biomphalaria glabrata* tratadas com extrato bruto de *Solanum malacoxylon*. **Ciência Animal**, v.16, n.2, p.61-70, 2006.

RAJMAN, M.; JURÁNI, M.; LAMOŠOVÁ, D. et al. The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus gallus*). **Comparative Biochemistry and Physiology, Part A**, v.145, p.363-371, 2006.

ROSS, E.; SIMPSON, C.F.; ROWLAND, L.O. et al. Toxicity of *Solanum sodomaemum* and *Solanum malacoxylon* to chicks. **Poultry Science**, v.50, n.3, p.870-873, 1971.

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

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 3.ed. Belo Horizonte-MG: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2010. 264p.

SCHMIDT, E.M.S.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SANTIN, E. et al. Patologia clínica em aves de produção – uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.12, n.3. p.9-20, 2007.

SCHOLTZ, N.; HALLE, I.; FLACHOWSY, G. et al. Serum chemistry reference values in adult Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) including sex-related differences. **Poultry Science**, v.88, n.6, p.1186-1190, 2009.

SEPÚLVEDA, C.A.G.; ROSALES, R.B. Mode of action of vitamin D₃, 1- α -hydroxycholecalciferol (1- α -OH-D₃) and 25-hydroxycholecalciferol (25-OH-D₃) in commercial laying hens. **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v.9, n.1, p.114-127, 2014.

SOUZA, C.S.; VIEITES, F.M.; VASCONCELLOS, C.H.F. et al. Suplemento de 1,25 dihidroxicolecalciferol e redução de cálcio e fósforo disponível para frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.65, n.2, p.519-525, 2013.

STANQUEVIS, C.E.; FURLAN, A.C.; MARCATO, S.M. et al. Vitamin K supplementation for meat quail in growth of 1 to 14 days old. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.6, p.4003-4012, 2015.

THRALL, M.A.; BAKER, D.C.; CAMPBELL, T.W. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Lippincott: Williams & Wilkins, 2004. 618p.

TURGUT, L.; HAYIRLI, A.; ÇELEBI, Ş. et al. The effects of vitamin D supplementation to peak-producing hens fed diets differing in fat source and level on laying performance, metabolic profile, and egg quality. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.19, n.8, p.1179-1189, 2006.

VILA, L.G. **Bioquímica em aves**: revisão de literatura. Seminário [Patologia, Clínica e Cirurgia Animal]. Goiânia-GO: Universidade Federal de Goiânia, 2013. 56p. Disponível em: <https://ppgca.evz.ufg.br/up/67/o/2013_Laura_Vila_2corrig.pdf>. Acesso em 17 jan. 2016 às 21:38:00.

6. CONCLUSÕES GERAIS

Experimento 1. O suplemento de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glicosídeo de origem vegetal nas rações para codornas japonesas em postura de 36 a 45 semanas de idade, não afetou os resultados produtivos. No que se refere aos resultados fisiológicos, verificou-se que a composição orgânica e a resistência óssea foram alteradas, contudo, não houve modificação da qualidade óssea, uma vez que a composição mineral (cinzas, Ca, P e relação Ca:P), a densidade (IS) e as frações solúveis em EDTA (PNC) não se modificaram. Os componentes sanguíneos (proteínas totais, albumina, globulinas), os minerais (cálcio, fósforo) e as transaminases séricas não foram alterados. Observou-se que a atividade de fosfatase alcalina aumentou mediante a adição do metabólito.

Desse modo, o máximo valor suplementar estudado ($1,0 \mu\text{g}$ de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3/\text{kg}$ de ração) não foi suficiente para promover alterações fisiológicas, tais como maior retenção mineral nos ossos e/ou melhoria nas variáveis produtivas. Possivelmente, as aves foram capazes de metabolizar suficiente $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ a partir do colecalciferol dietético, e/ou utilizar a quantidade adicional do referido metabólito na manutenção da produtividade.

Experimento 2. As codornas japonesas em pós-pico de postura (52 a 61 semanas de idade) alimentadas com ração contendo níveis reduzidos de Ca e P_{disp} (em 15 e 30%) associados ao suplemento de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glicosídeo de origem vegetal não apresentaram melhores resultados produtivos e fisiológicos. O desempenho produtivo, a qualidade de ovos, a biometria de vísceras e a bioquímica sérica das aves não foram influenciados pelos tratamentos. Houve interação significativa entre os níveis de Ca e $\text{P}_{\text{disp}} \times 1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, para as proteínas ósseas (colagenosas, não colagenosas e totais) e para as cinzas nos fêmures. Apesar dos efeitos observados na composição orgânica e mineral dos ossos, não houve desestabilização da matriz óssea.

Os resultados indicaram que as quantidades subótimas de Ca e P_{disp} estudadas estavam em conformidade com o requerimento biológico das aves (manutenção da produtividade e tecido ósseo), e que possivelmente as recomendações preconizadas para os referidos minerais estão elevadas ou mesmo que as codornas foram tolerantes as variações dos níveis dietéticos de Ca e P_{disp} .

Anexo A – Certificado de aprovação do projeto de pesquisa junto ao Comitê de Ética para Uso de Animais do Departamento de Zootecnia – DZO/UFV.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

Campus Universitário – Viçosa, MG – 36570-000 – Telefone: (31) 3899.2262 – Fax: (31) 3899.2275 – e-mail: dzo@ufv.br

Comitê de Ética para Uso de Animais/DZO

Viçosa, 15 de outubro de 2013

CERTIFICADO

O Comitê de Ética para Uso de Animais do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa certifica que o **processo nº 82/2013**, intitulado “**Desempenho, qualidade de ovos, bioquímica sanguínea, enzimática e óssea de codornas japonesas em postura alimentadas com suplemento de 1,25-dihidroxitamina D3-glicosídeo de origem vegetal**”, coordenado pelo(a) **Prof(a). Sérgio Luiz de Toledo de Barreto**, está de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, estabelecido pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por este Comitê em **14/Out/2013**.

CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use of Animal Science Department/Universidade Federal de Viçosa certify that the **process number 82/2013**, named “**Performance, egg quality, blood biochemical, enzymatic and bone aspects of Japanese quails fed supplement of 1,25-dihydroxyvitamin D3-glycoside of plant origin**”, coordinated by **Prof(a). Sérgio Luiz de Toledo de Barreto**, is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA) and with actual Brazilian legislation. This Institutional Committee approved this process on Oct, **14th, 2013**

Mário Luiz Chizzotti
Presidente do CEUA/DZO/UFV