

1,25-dihidroxitamina-D₃ sobre as características ósseas de frangos de corte fêmeas

[1,25-dihydroxyvitamin-D₃ over bony characteristics of female broilers]

F.M. Vieites¹, L.C.A.B. Drosghic², C.S. Souza³, C.A.R. Lima⁴, G.H.K. Moraes⁵, R.V. Nunes⁶,
C.H.F. Vasconcellos⁷, J.G. Vargas Júnior⁸

¹Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF – Juiz de Fora, MG

²Zootecnista autônomo – Universidade Federal de Mato Grosso – UFMT – Cuiabá, MT

³Zootecnista autônomo – Universidade Federal de Viçosa – UFV – Viçosa, MG

⁴Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ – Seropédica, RJ

⁵Universidade Federal de Viçosa – UFV – Viçosa, MG

⁶Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste – Marechal Rondon, PR

⁷Universidade Federal de Viçosa – UFV – Florestal, MG

⁸Universidade Federal do Espírito Santo – Ufes – Alegre, ES

RESUMO

Objetivou-se avaliar as características dos tibiotarsos de frangos de corte fêmeas. As variáveis analisadas foram os pesos *in natura*, secos e desengordurados, o comprimento, os diâmetros, a resistência óssea, o índice de Seedor (IS), os percentuais de proteínas colagenosas (PC), as proteínas não colagenosas (PNC), os minerais (cálcio, fósforo, potássio e sódio) e as cinzas. Foram utilizadas 648 aves, da marca comercial Cobb®, em um delineamento em blocos ao acaso, com seis tratamentos e seis repetições, com 18 aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram na suplementação de 0,00; 0,50; 1,00; 1,50; 2,00 e 2,50 µg de 1,25-dihidroxitamina-D₃ (1,25(OH)₂D₃)/kg de ração. Aos 21 e 35 dias de idade, as aves foram pesadas e uma ave por unidade experimental (UE) com o peso médio da UE foi eutanasiada para a obtenção dos tibiotarsos e subsequente análise dos parâmetros ósseos. As variáveis métricas, bem como a composição orgânica (PC), a densidade (IS) e a resistência à quebra dos ossos das aves, não foram influenciadas pelos tratamentos. No recebimento de 2,50 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração, observou-se maior retenção mineral (cinzas) nos ossos das aves aos 35 dias de idade.

Palavras-chave: colágeno, índice de Seedor, resistência à quebra, *Solanum glaucophyllum*

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the characteristics of tibiotarsus of female broilers. The variables analyzed were the weights in natura, dry and degreased, length, diameter, bone strength, Seedor index, percentage of collagenous protein (CP), non-collagenous proteins (NCP), minerals (calcium, phosphorus, potassium and sodium), and ash. Six hundred forty-eight, Cobb® birds were used, a design of randomized blocks with six treatments and six replicates of 18 birds each. The treatments consisted of supplementation of 0.00; 0.50; 1.00; 1.50; 2.00 to 2.50 µg of 1,25-dihydroxyvitamin-D₃ (1,25(OH)₂D₃)/kg of ration. At 21 and 35 days of age the birds were weighed and a unit/experimental unit (EU) with the EU average weight was euthanized to obtain the tibiotarsos and subsequent analysis of the bone parameters. The metric variables, as well as the organic composition (CP), density (IS) and resistance to breakage of the bones of the birds were not affected by treatments. Upon reception of 2.50 µg of 1,25(OH)₂D₃/kg ration, there was a higher mineral retention (ashes) in the bones of female broilers at 35 days of age.

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

INTRODUÇÃO

O setor avícola brasileiro caracteriza-se por elevada eficiência produtiva, ocupando posição de destaque no cenário mundial. Segundo a Associação Brasileira de Produção Animal – ABPA (Relatório..., 2016), o Brasil foi o maior produtor de carne de frango no ano de 2015, com 13,14 milhões de toneladas. A alta produtividade do país decorre das tecnologias utilizadas, bem como dos programas de melhoramento genético e de nutrição diferenciada (Vieites *et al.*, 2014).

Nas últimas décadas, o ganho de peso médio diário do frango de corte aumentou de 20 para mais de 50 gramas/dia e a idade de abate reduziu de 12 para seis semanas (Ponso *et al.*, 2012). Sendo o crescimento da ave dependente do desenvolvimento muscular e do tecido ósseo e tendo como premissa o fato de que os programas de melhoramento dos produtos comerciais utilizados na avicultura de corte foram baseados em parâmetros de desempenho, as aves utilizadas apresentam crescimento muscular elevado, sem que o suporte esquelético consiga acompanhar esse crescimento. Assim, o sistema esquelético, de certa forma, ainda se encontra imaturo, tendo como consequência o aparecimento de problemas locomotores (Alves *et al.*, 2013).

As deformidades ósseas são causadas por alterações no processo de crescimento normal e da homeostase no tecido ósseo (Araújo *et al.*, 2012). Existem duas categorias de problemas mais gerais: a discondroplasia tibial (DT), que acomete frangos na fase inicial do crescimento, e os problemas estruturais, aqueles que levam a deformidades e distorções dos ossos longos, sobretudo no final do crescimento (Barbosa *et al.*, 2010).

O osso compõe-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). Aproximadamente 30% da porção orgânica da matriz extracelular são formados 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 razão da taxa dos osteoclastos, no processo de reabsorção óssea (Araújo *et al.*, 2011).

Os minerais têm significativa participação no metabolismo ósseo. O esqueleto é grande reservatório de cálcio (Ca) e fósforo (P), sendo esses elementos encontrados em suas formas catiônicas e aniônicas, respectivamente. O “turnover” ósseo garante parte do atendimento das exigências biológicas de Ca e P, tendo a outra parte atendida pela dieta. No entanto, sempre há mobilização de Ca e P do tecido ósseo, com posterior reposição. As quantidades de cada mineral para suas respectivas funções metabólicas determinam-se pela eficiência de absorção intestinal, pela filtração glomerular, pela reabsorção tubular renal, pelas taxas de transferência do sangue para o osso e pelas perdas endógenas e intestinais. As eficiências dos referidos processos modulam-se por vários hormônios, com destaque para o paratormônio (PTH) e o calcitriol (1,25-dihidroxitamina-D₃ – 1,25(OH)₂D₃), forma hormonal da vitamina D (Li *et al.*, 2016).

A 1,25(OH)₂D₃ exerce importante papel no metabolismo do Ca e do P, estando envolvida na absorção dos referidos minerais, bem como na mobilização e mineralização óssea (Garcia *et al.*, 2013), na regulação do crescimento e na diferenciação celular do tecido ósseo (Oliveira *et al.*, 2015).

Dessa maneira, objetiva-se, com este estudo, avaliar as características ósseas, por meio da resistência óssea e da composição orgânica e mineral de tibiotarsos, de frangos de corte fêmeas alimentados com rações suplementadas com 1,25-dihidroxitamina-D₃.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Setor de Avicultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – IFMT (Campus São Vicente –

1,25-dihidroxitamina-D₃...

CSV), município de Santo Antônio de Leverger, Mato Grosso. Foram utilizados 648 frangos de corte, fêmeas, da marca comercial Cobb®. O delineamento adotado foi em blocos ao acaso (DBC), com seis tratamentos: 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 µg de 1,25-dihidroxitamina-D₃ (1,25(OH)₂D₃)/kg de ração, com seis repetições e 18 aves por unidade experimental. O DBC foi adotado em função do posicionamento dos boxes em relação ao galpão.

O produto comercial (Panbonis®, Technofeed, Suíça) utilizado como fonte da vitamina

D₃ ativa, de origem vegetal, foi incluído nas rações experimentais em substituição ao material inerte (areia), sendo composto de 10mg/kg dessa vitamina (*Solanum glaucophyllum* industrializada). As rações experimentais foram formuladas de acordo com as recomendações de Rostagno *et al.* (2005) para as fases de oito a 21 e 22 a 35 dias de idade (Tab.1). Ração e água foram fornecidas à vontade, e programa de luz de 24 horas foi utilizado.

Tabela 1. Rações experimentais e composição calculada

Ingredientes (%)	Ração 8 a 21 dias	Ração 22 a 35 dias
Farelo de milho	57,956	60,8238
Farelo de soja	35,0591	31,4815
Óleo de soja	2,8600	3,7700
Fosfato bicálcico	1,8136	1,6702
Calcário calcítico	0,8325	0,7911
Sal comum	0,4450	0,4240
DL-Metionina (99%)	0,2691	0,2458
L-Lisina HCl (50,7%)	0,3420	0,3323
L-Treonina (99%)	0,0731	0,0613
Cloreto de colina (60%)	0,1000	0,1000
Mistura vitamínica e mineral ^{1,2}	0,2000	0,2000
Virginiamicina (10%)	0,0150	0,0150
Salinomicina (12%)	0,0500	0,0500
Antioxidante ³	0,0100	0,0100
Areia lavada (inerte)	0,0250	0,0250
Composição calculada		
Energia metabolizável (kcal)	3050	3147
Proteína bruta (%)	21,1400	19,7300
Cálcio (%)	0,8990	0,8370
Fósforo disponível (%)	0,4490	0,4180
Sódio (%)	0,2180	0,2080
Cloro (%)	0,2977	0,2863
Metionina + cistina digestível (%)	0,8440	0,7910
Lisina digestível (%)	1,1890	1,0990
Treonina digestível (%)	0,7730	0,7140
Triptofano digestível (%)	0,2416	0,2222

¹Suplemento POLIAVE CORTE INICIAL (Tortuga®): vitamina A – 5.546.000,00UI/kg; ferro – 24.800,00mg; selênio – 150,00mg; vitamina D₃ – 1.339.000,00UI/kg; vitamina K3 – 944,00mg; vitamina B1 – 1.005,00mg; vitamina B6 – 1245,00mg; ácido pantotênico – 5.890,00mg; ácido fólico – 495,00mg; cobre – 4.280,00mg; iodo – 500,00mg; vitamina B2 – 2.250,00mg; vitamina B12 – 6.000,00mcg; niacina – 15000,00mg; B.H.T – 1.000,00mg; biotina – 50,00mg; manganês 33.300,00mg; zinco – 25.680,00mg; vitamina E – 12.430,00UI/kg. ²Suplemento POLIAVE CORTE FINAL (Tortuga®): vitamina A – 2726,00UI/kg; ferro – 24.800,00mg; selênio – 150,00mg; vitamina D₃ – 658300,00UI/kg; vitamina K3 – 464,00mg; vitamina B1 – 502,00mg; vitamina B6 – 623mg; ácido pantotênico – 2940,00mg; ácido fólico - 153,00mg; cobre – 4280,00mg; iodo – 500,00mg; vitamina B2 – 1.125,00mg; vitamina B12 – 3000,00mcg; niacina – 7500,00mg; B.H.T – 1000,00mg; biotina – 15,00mg; manganês 33.300,00mg; zinco – 25.680,00mg; vitamina E – 4.990,00UI/kg. ³Butil-hidróxi-tolueno (BHT).

Aos 21 e 35 dias de idade, uma ave/unidade experimental (UE) foi pesada e eutanasiada por deslocamento cervical e teve os tibiotarsos removidos (Registro no Comitê de Ética para

Uso de Animais do IFMT – Ceua-IFMT/SVC, processo n°. 23197.001804/2013-02). Os ossos foram limpos de todo tecido aderente, identificados e congelados (-20°C).

As análises laboratoriais da composição orgânica e mineral dos ossos foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Animal (LBA) do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

O osso *in natura* foi utilizado na análise do índice de Seedor (IS), sendo os tibiotarsos pesados em balança analítica de precisão ($\pm 0,0001\text{g}$) e medidos com paquímetro digital (0 a 150mm e precisão de 0,01mm). O IS foi obtido dividindo-se o peso do osso (mg) pelo comprimento (mm). Esse índice é indicativo da densidade óssea (Seedor *et al.*, 1991).

Os tibiotarsos esquerdos foram utilizados para determinação da resistência óssea e dos teores de proteínas colagenosas (PC) e não colagenosas (PNC). Eles foram descongelados em temperatura ambiente e, posteriormente submetidos ao ensaio de flexão, com o uso da máquina universal de ensaios mecânicos INSTRON, modelo 4204. 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) a uma velocidade constante de 10mm/min, conforme especificado pela Sociedade Americana de Engenharia Agrícola – Asae (Shearand..., 1992). O momento da ruptura do osso foi registrado em quilograma força (kgf).

Logo após a determinação da resistência óssea, os tibiotarsos foram cortados longitudinalmente, sendo removida a medula óssea com jatos de água destilada. A seguir, foram desengordurados com éter de petróleo, em aparelho Soxhlet, por 12 horas, para determinação das concentrações das PC e PNC, conforme proposto por Barbosa *et al.* (2010).

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

Depois de desengordurados e desmineralizados, os ossos foram lavados várias vezes com água destilada e deionizada para extração do EDTA e, então, usados para determinação de PC, utilizando-se 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, 2002). Os valores percentuais das proteínas (PC e PNC) foram calculados em relação ao peso do osso seco desengordurado.

Para a determinação das concentrações dos minerais, os tibiotarsos direitos foram descongelados, submetidos à estufa a 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 desengordurados dos ossos. Posteriormente, foram calcinados em mufla a 600°C, por período de seis horas, para a determinação dos teores de cinzas e posterior preparo de solução mineral (Silva e Queiroz, 2002).

A determinação dos teores de sódio, potássio e cálcio nas cinzas foi realizada por espectrometria de absorção atômica e do fósforo, por colorimetria. Para a identificação desses elementos, 10mL de ácido clorídrico (6M) foram adicionados às cinzas, após estas terem sido esfriadas, com a finalidade de descomplexar os cristais de hidroxiapatita e, assim, liberar os minerais. Os cadinhos com as amostras calcinadas e a solução de ácido clorídrico foram colocados sobre placa de aquecimento, onde se procedeu à evaporação total até o produto ficar completamente seco. O produto resultante foi dissolvido por meio da adição de água destilada e deionizada, sendo, então, a solução filtrada em papel-filtro e recolhida em proveta de 50mL, com volume completado com água destilada.

Os valores dos minerais foram expressos em termos de porcentagem de cinzas em relação aos pesos dos ossos secos e desengordurados, e a relação cálcio:fósforo (Ca:P) foi obtida dividindo-se a porcentagem de Ca pela de P nas cinzas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e a variável resposta foi regredida em função dos níveis de suplementação da 1,25-dihidroxitamina-D₃, quando pertinente, ou ainda aplicando-se o teste de Dunnett,

considerando-se o nível de 5% e 10% de probabilidade para os minerais.

Utilizou-se o programa SAS (SAS Institute, 2002), por meio do modelo estatístico: $Y_{ij} = \mu + t_i + b_j + e_{ij}$, em que: Y_{ij} = observação da variável dependente na unidade experimental submetida no bloco j ao tratamento i com suplementação de 1,25(OH)₂D₃; μ = constante geral; t_i = efeito do tratamento i : 1, 2, 3, 4, 5, 6 (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e 2,5 μ g de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração); b_j = efeito do bloco j ; $j=1, 2, 3, 4, 5, 6$; e_{ij} = erro aleatório associado a cada observação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fornecimento suplementar da 1,25-dihidroxitamina-D₃ (1,25(OH)₂D₃) nas rações não influenciou os pesos *in natura*, secos e desengordurados, o comprimento, os diâmetros, o índice de Seedor e a resistência à quebra dos ossos das aves aos 21 dias de idade (Tab. 2). Os resultados verificados no presente estudo também foram observados por Vieites *et al.* (2016), ao estudarem a adição da 1,25(OH)₂D₃ nas rações para frangos de corte machos com 21 dias de idade. Os autores citados não observaram quaisquer efeitos nas variáveis métricas dos tibiotarsos das aves.

Tabela 2. Peso, comprimento, diâmetros, índice de Seedor e resistência dos tibiotarsos de frangos de corte fêmeas aos 21 dias de idade

Variável	μ g de 1,25-dihidroxitamina-D ₃ /kg de ração						CV (%)	Efeito
	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50		
Peso <i>in natura</i> (g)	5,58	5,16	5,43	5,38	5,51	5,46	7,37	NS
Comprimento (mm)	71,80	71,70	70,80	69,80	70,80	69,70	3,15	NS
Diâmetro horizontal (mm)	5,30	5,60	5,80	5,70	5,70	5,70	5,74	NS
Diâmetro vertical (mm)	5,00	4,90	5,10	5,00	4,90	4,90	6,21	NS
Peso seco e desengordurado (g)	1,99	1,92	2,03	2,02	2,00	2,00	7,42	NS
Índice de Seedor	77,77	72,06	76,68	77,19	77,86	78,49	8,46	NS
Resistência óssea (kgf)	15,90	16,92	17,20	19,34	19,48	18,22	17,22	NS

CV = coeficiente de variação; NS = não significativo ($P > 0,05$).

De modo similar ao observado na fase inicial, os pesos secos e desengordurados, o comprimento, os diâmetros e a resistência óssea aos 35 dias de idade não foram influenciados pela adição do metabólito da vitamina D nas rações (Tab. 3). Os pesos *in natura* dos ossos das aves

suplementadas com 2,0 a 2,5 μ g de 1,25(OH)₂D₃ foram maiores quando comparados aos demais tratamentos. Contudo, nos pesos secos e desengordurados dos referidos ossos, não foram detectadas diferenças significativas.

Tabela 3. Peso, comprimento, diâmetros, índice de Seedor e resistência dos tibiotarsos de frangos de corte fêmeas aos 35 dias de idade

Variável	μ g de 1,25-dihidroxitamina-D ₃ /kg de ração						CV (%)	Efeito
	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50		
Peso <i>in natura</i> (g)	10,78a	11,09a	11,34a	11,35a	11,38b	11,54b	4,66	SIG*
Comprimento (mm)	93,00	91,00	92,80	94,20	94,30	93,30	2,59	NS
Diâmetro horizontal (mm)	7,00	7,30	7,00	7,50	7,20	7,20	6,08	NS
Diâmetro vertical (mm)	5,80	6,00	5,60	6,20	5,40	6,20	9,54	NS
Peso seco e desengordurado (g)	3,87	3,94	3,97	4,01	4,12	4,10	6,57	NS
Índice de Seedor	115,87	121,86	122,24	120,55	120,81	123,80	5,88	NS
Resistência óssea (kgf)	20,83	23,23	19,50	25,70	16,73	16,62	30,28	NS

CV = coeficiente de variação; NS = não significativo ($P > 0,05$); SIG* = médias de mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade ($P < 0,05$).

Garcia *et al.* (2013) estudaram a vitamina D₃, 25(OH)D₃, 1 α (OH)D₃ e 1,25(OH)₂D₃ na alimentação de frangos de corte e verificaram que os diâmetros, a resistência à quebra, as cinzas, o índice de Seedor, os teores de cálcio e

de fósforo nos tibiotarsos e nos fêmures das aves, aos sete, 21 e 42 dias, também não foram influenciadas pela vitamina D em suas diferentes formas. Os pesquisadores citados forneceram as formas da vitamina D₃ em quantidade

equivalente ao valor demandado pelos animais (2000UI de vitamina D₃/kg de ração na fase inicial e 1600UI/kg na fase de crescimento), desse modo concluíram que os níveis estudados estavam em conformidade com o requerimento do tecido ósseo das aves. Nesse sentido, é possível que o mesmo fato tenha acontecido no presente estudo, ou seja, que os níveis suplementares da 1,25(OH)₂D₃ avaliados não tenham sido suficientes para influenciar o desenvolvimento dos ossos, atendendo a demanda fisiológica das aves.

A densidade óssea, denotada pelo índice de Seedor (IS), não foi alterada nas fases de criação estudadas, fato que indica a integridade no preenchimento da matriz orgânica óssea. Vieites *et al.* (2016) observaram que a adição do metabólito da vitamina D nas mesmas quantidades das avaliadas nesse estudo afetou, de forma quadrática decrescente, o IS dos ossos de frangos de corte machos, que foi de 142,55 (aos 35 dias), com 1,53 µg da 1,25(OH)₂D₃ suplementar/kg de ração, sendo essa dose a mais indicada para a manutenção da qualidade óssea.

Os resultados da resistência à quebra (RQ) seguiram um padrão semelhante aos resultados das análises de densidade (IS) dos referidos ossos (P>0,05), o que indica que a resistência do material relaciona-se com a densidade dele e corrobora o trabalho de Mayer (2014). Housseini *et al.* (2016) concluíram que a administração de 1,25(OH)₂D₃ nas rações (0,50 µg/kg) apresentou efeitos benéficos na força óssea de frangos de corte machos (Ross 308®) de 42 dias de idade, sendo também observada maior zona mineralizada nos ossos.

A composição orgânica foi afetada pelo incremento dietético de 1,25(OH)₂D₃, sendo observado efeito (P<0,05) nos valores percentuais de proteínas não colagenosas (PNC) nos ossos aos 35 dias de idade (Tab. 4). Observou-se que os teores de PNC aos 35 dias foram menores quando comparados aos de 21 dias. Barbosa *et al.* (2010) e Müller *et al.* (2012) relataram a existência de redução de atividade metabólica nos ossos com o avançar da idade.

Tabela 4. Percentuais de proteínas colagenosas (PC) e não colagenosas (PNC) nos tibiotarsos de frangos de corte fêmeas aos 21 e 35 dias de idade

Variável	Idade (dias)	µg de 1,25-dihidroxivitamina-D ₃ /kg de ração						CV (%)	Efeito
		0,00	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50		
PNC (%)	21	0,87	0,78	0,84	0,80	0,79	0,86	8,79	NS
PNC (%)	35	0,27a	0,23a	0,27a	0,27a	0,25a	0,20b	17,23	SIG*
PC (%)	21	31,95	35,34	32,94	32,76	33,95	34,75	6,83	NS
PC (%)	35	36,14	36,14	36,17	35,52	34,53	36,32	4,32	NS

CV = coeficiente de variação; NS = não significativo (P>0,05); SIG* = médias de mesma letra linha não diferem entre si pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05).

Os resultados da composição mineral dos ossos das aves aos 21 dias estão na Tab. 5. Cinzas, cálcio (Ca), fósforo (P), relação Ca:P, potássio (K) e sódio (Na) não foram influenciados pelos tratamentos. De acordo com Müller *et al.* (2012), a composição dos sais dos ossos não é fixa, entretanto reflete o estado de equilíbrio químico do organismo animal. Portanto, em casos de distúrbios severos, haverá mobilizações dos minerais (Na, K), as quais alteram suas concentrações.

Os percentuais de proteínas colagenosas (PC), bem como da RQ e do IS, não foram afetados

pelos níveis de 1,25(OH)₂D₃ adicionados nas rações. As propriedades ósseas são produzidas pela interação entre seus três constituintes principais: água, minerais e colágeno. A relação da quantidade entre esses elementos interfere em muitas propriedades biomecânicas. Porém, o colágeno, quando em proporções adequadas, permite que os ossos sofram flexão sem se quebrarem, suportando maior carga, independentemente da rigidez produzida pelos cristais de hidroxiapatita (Currey, 2003; Vieites *et al.*, 2016).

Tabela 5. Cinzas e percentuais de minerais nos tibiotarsos de frangos de corte fêmeas aos 21 dias de idade

Variável	µg de 1,25-dihidroxitamina-D ₃ /kg de ração						CV (%)	Efeito
	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50		
Cinzas (g)	0,94	0,85	0,94	0,89	0,89	0,82	9,57	NS
Cálcio (%)	14,30	14,15	14,75	13,52	13,92	13,17	10,45	NS
Fósforo (%)	6,83	6,76	6,66	6,47	6,63	6,87	11,35	NS
Relação Ca:P	1,97	2,10	2,19	2,09	2,10	1,97	5,06	NS
Sódio (%)	0,52	0,57	0,57	0,58	0,58	0,60	9,86	NS
Potássio (%)	0,35	0,40	0,34	0,40	0,40	0,38	15,22	NS

CV = coeficiente de variação; NS = não significativo (P>0,05).

O nível suplementar máximo avaliado (2,5 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg) não interferiu nas quantidades percentuais de cinzas e minerais das aves na fase inicial. Diferentemente do verificado, Sheikhlar e Navid (2009) investigaram as características ósseas de codornas de corte até três semanas de idade, as quais receberam dietas com adição de 1,25(OH)₂D₃ e com deficiência de cálcio (0,71%) e fósforo (0,37%), e constataram que 6,50 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração aumentaram

a concentração de cinzas e cálcio nos ossos das aves.

As quantidades de cinzas e os percentuais de Ca, P, Ca:P, Na e K dos ossos dos frangos de corte fêmeas aos 35 dias de idade estão apresentadas na Tab. 6. Observou-se que houve maior retenção mineral (P>0,05) nos ossos das aves alimentadas com 2,50 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração.

Tabela 6. Cinzas e percentuais de minerais nos tibiotarsos de frangos de corte fêmeas aos 35 dias de idade

Variável	µg de 1,25-dihidroxitamina-D ₃ /kg de ração						CV (%)	Efeito
	0,00	0,50	1,00	1,50	2,00	2,50		
Cinzas (g)	1,82a	1,84 ^a	1,80a	1,84a	1,93a	1,98b	8,90	SIG*
Cálcio (%)	16,12	16,26	15,79	18,03	15,79	16,28	10,29	NS
Fósforo (%)	6,47	6,92	6,41	7,24	6,02	6,78	13,65	NS
Relação Ca:P	2,65	2,40	2,47	2,09	2,11	2,41	6,00	NS
Sódio (%)	0,33a	0,38 ^a	0,31a	0,34a	0,31a	0,26b	14,74	SIG ⁰
Potássio (%)	0,26a	0,30 ^a	0,20a	0,28a	0,26a	0,18b	27,84	SIG ⁰

CV = coeficiente de variação; NS = não significativo (P>0,05); SIG* = médias de mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de probabilidade (P<0,05); SIG⁰ = médias de mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Dunnett ao nível de 10% de probabilidade (P<0,10).

Souza e Vieites (2014) reportaram que o uso de vitamina D₃ e/ou de seus metabólitos não tem prejudicado o desempenho zootécnico dos frangos de corte e ainda demonstra melhorias na utilização do fósforo e no incremento no teor de cinzas dos ossos, o que proporciona maior qualidade óssea das aves. Esse fato também foi observado no presente estudo.

As relações médias de Ca:P de 2,07:1 e 2,35:1, nos ossos de 21 e 35 dias de idade, respectivamente, não foram influenciadas pela adição da vitamina nas rações. A relação Ca:P aos 21 dias foi próxima daquela preconizada como ideal por Williams *et al.* (2000), que sugeriram a relação de 2,15:1 nos tibiotarsos de frangos de corte aos 18 dias de idade; entretanto, os autores citados verificaram variações de

1,82:1 a 3,89:1. A maior relação Ca:P verificada nos ossos dos 35 dias decorreu da maior retenção mineral (cinzas).

Nos ossos de 35 dias de idade das aves que foram alimentadas com 2,5 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração, houve redução das quantidades de Na e K (P<0,10). Vieites *et al.* (2016) observaram que o Na e o K nos ossos de frangos de corte machos aos 35 dias foram influenciados de forma quadrática e que, ao se incrementar o metabólito nas rações, as quantidades percentuais dos referidos minerais reduziram. Segundo Müller *et al.* (2012), uma quantidade de Na e de K pode ser mobilizada do esqueleto sob circunstâncias apropriadas, sem dissolução geral da matriz do cristal.

CONCLUSÕES

A 1,25(OH)₂D₃ adicional nas rações para frangos de corte fêmeas de oito a 35 dias de idade não alterou a composição orgânica (PC), a densidade óssea (IS) e a resistência dos ossos à quebra. O uso de 2,50 µg de 1,25(OH)₂D₃/kg de ração propiciou maior retenção mineral (cinzas) óssea nos frangos de corte aos 35 dias de idade.

REFERÊNCIAS

- ALVES, M.C.F.; ALMEIDA PAZ, I.C.L.; CALDARA, F.R. Equilíbrio e problemas locomotores em frangos de corte. *Bras. J. Biol. Eng.*, v.7, p.35-44, 2013.
- 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. *Arq. Bra. Med. Vet. Zootec.*, v.63, p.954-961, 2011.
- ARAÚJO, G.M.; VIEITES, F.M.; SOUZA, C.S. Importância do desenvolvimento ósseo na avicultura. *Arch. Zootec.*, v.61, p.79-89, 2012.
- 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. *Rev. Bras. Zootec.*, v.39, 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. *Anal. Biochem.*, v.72, p.248-254, 1976.
- CURREY, J.D. Role of collagen and other organics in the mechanical properties of bone. *Osteoporos Int.*, v.14, Suppl.5, p.S29-S36, 2003.
- 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-Australas. J. Anim. Sci.*, v.26, p.408-415, 2013.
- HOSSEINI, S.J.I.; KERMANSHAHI, H.I.; NASSIRIMOGHADDAM, H.I. Effects of 1.25-dihydroxycholecalciferol and hydroalcoholic extract of *Withania coagulans* fruit on bone mineralization and mechanical and histological properties of male broiler chickens. *Bras. J. Poul. Sci.*, v.18, p.73-86, 2016.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 427p.
- LI, X.; ZHANG, D.; TSUNG, Y.Y. *et al.* Phosphorus bioavailability: a key aspect for conserving this critical animal feed resource with reference to broiler nutrition. *Agriculture*, v.6, p.1-15, 2016.
- MAYER, A.N. *Granulometrias do calcário calcítico e redução do cálcio dietético para frangos de corte*. 2014. 95f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- 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. *Rev. Bras. Zootec.*, v.41, 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. *Semin. Ciênc. Agrár.*, v.35, p.1023-1034, 2014.
- OLIVEIRA, R.P.; SANTOS, E.T.; SGAVIOLI S. *et al.* Níveis de vitamina D sobre o desempenho e desenvolvimento ósseo de linhagens de frangos de corte. *ARS Vet.*, v.31, p.1-6, 2015.
- PONSO, R.; FARIA, D.E.; ALBUQUERQUE, R. *et al.* Avaliação do desenvolvimento da discondroplasia tibial em frangos de corte submetidos à dieta com 25 hidroxicolecalciferol. *Bras. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.49, p.153-161, 2012.
- RELATÓRIO anual. São Paulo: ABPA, 2016. 136p.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. *et al.* *Tabelas brasileiras para suínos e aves: composição de alimentos e exigências nutricionais*. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, 2005. 186p.
- SAS user's guide, version 9.0. Cary: SAS, 2002. 513p.
- SEEDOR, J.G.; QUARRACCIO, H.H.; THOMPSON, D.D. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to

ovariectomy in rats. *J. Bone Miner. Res.*, v.6, p.339-346, 1991.

SHEARAND three-point bending test of animal bone. Saint Joseph: ASAE, p.581-583, 1992. (Standard S459).

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. *Pak. J. Nutr.*, v.8, p.1517-1520, 2009.

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

SOUZA, C.S.; VIEITES, F.M. Vitamin D₃ e seus metabólitos para frangos de corte. *Arch. Zootec.*, v.63, p.11-24, 2014.

VIEITES, F.M.; DROSGHIC, L.C.A.B.; SOUZA, C.S. *et al.* Bone characteristics of broiler chickens fed diets supplemented with *Solanum glaucophyllum*. *Semin. Ciênc. Agrár.*, v.37, p.381-392, 2016.

VIEITES, F.M.; NALON, R.P.; SANTOS, A.L. *et al.* Desempenho, rendimento de carcaça e cortes nobres de frangos de corte alimentados com rações suplementadas com *Solanum glaucophyllum*. *Semin. Ciênc. Agrar.*, v.35, p.1617-1626, 2014.

WILLIAMS, B.; WADDINGTON, D.; SOLOMON, S. *et al.* Dietary effects on bone quality and turnover, and Ca and P metabolism in chickens. *Res. Vet. Sci.*, v.69, p.81-87, 2000.