

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**  
**CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CRISTINE REGINA GREGORY**

**1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> GLICOSÍDEO DE ORIGEM FITOTERÁPICA SUPLEMENTADA**  
**EM DIETAS PARA LEITÕES EM FASE DE CRECHE**

**Marechal Cândido Rondon**

**2023**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ**  
**CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CRISTINE REGINA GREGORY**

**1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> GLICOSÍDEO DE ORIGEM FITOTERÁPICA SUPLEMENTADA**  
**EM DIETAS PARA LEITÕES EM FASE DE CRECHE**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção Animal, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho  
Coorientador: Prof<sup>o</sup>. Dr. Danyel Bueno Dalto

**Marechal Cândido Rondon**

**2023**

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Gregory, Cristine Regina  
1,25(OH)2D3 glicosídeo de origem fitoterápica  
suplementada em dietas para leitões em fase de creche /  
Cristine Regina Gregory; orientador Paulo Levi de Oliveira  
Carvalho ; coorientador Danyel Bueno Dalto . -- Marechal  
Cândido Rondon, 2023.  
53 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Marechal Cândido  
Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro  
de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia,  
2023.

1. Nutrição animal . 2. Suinocultura . 3. Vitamina D. I.  
Carvalho , Paulo Levi de Oliveira , orient. II. Dalto ,  
Danyel Bueno , coorient. III. Título.

---

**CRISTINE REGINA GREGORY**

**1,25(OH)2D3 glicosídeo de origem fitoterápica suplementada em dietas para leitões em fase de creche**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de “Mestra em Zootecnia”, Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal”, Linha de Pesquisa “Produção e Nutrição de Não-Ruminantes / Aquicultura”, APROVADA pela seguinte Banca Examinadora:

Orientador / Presidente – Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon

Membro – Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus* de Mal. Cândido Rondon

Membro – Prof. Dr. Gabriel Cipriano Rocha  
Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Marechal Cândido Rondon, 26 de maio de 2023.

---



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**

GOVERNO DO ESTADO

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA**

Eu, **Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho**, declaro como **ORIENTADOR** que presidi os trabalhos de defesa à distância, de forma síncrona e por videoconferência, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Cristine Regina Gregory**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, a apresentação e a arguição dos membros da Banca Examinadora, **formalizo como Orientador**, para fins de registro, por meio desta declaração, a decisão da Banca Examinadora de que a candidata foi considerada **APROVADA** na banca realizada em 26/05/2023, com o trabalho intitulado **"1,25(OH)2D3 glicosídeo de origem fitoterápica suplementada em dietas para leitões em fase de creche"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Favorável

  
**Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira** - ORIENTADOR/PRESIDENTE

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) / Campus de Mal. Cândido Rondon  
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia

*Modelo 2 - Para orientador(a) da Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE*



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**

GOVERNO DO ESTADO

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA**

Eu, **Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes**, declaro que **particpei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Cristine Regina Gregory**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Interno**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada **APROVADA** na banca realizada em 26/05/2023, com o trabalho intitulado "**1,25(OH)2D3 glicosídeo de origem fitoterápica suplementada em dietas para leitões em fase de creche**".

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

**Prof. Dr. Prof. Dr. Ricardo Vianna Nunes**

Unioeste / Campus de Mal. Cândido Rondon

Centro de Ciências Agrárias



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



**PARANÁ**

GOVERNO DO ESTADO

## PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

### DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Prof. Dr. Gabriel Cipriano Rocha**, declaro que participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação da candidata **Cristine Regina Gregory**, aluna de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que a candidata pode ser considerada APROVADA na banca realizada em 26/05/2023, com o trabalho intitulado "**1,25(OH)2D3 glicosídeo de origem fitoterápica suplementada em dietas para leitões em fase de creche**".

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Gabriel C  
Rocha

Assinado de forma digital por Gabriel  
C Rocha  
DN: cn=Gabriel C Rocha,  
ou=Universidade Federal de Viçosa,  
ou=UFV, email=gcocha@ufv.br, c=BR  
Dados: 2023.05.31 15:26:17 -03'00'

**Prof. Dr. Gabriel Cipriano Rocha**  
Universidade Federal de Viçosa (UFV)

*Modelo 1 – Para membros de Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE*

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus maiores incentivadores, Beatriz e Jorge Gregory

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela vida e pela oportunidade de poder realizar coisas incríveis.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Levi de Oliveira Carvalho, por dar todo o suporte e orientação durante todo o meu período acadêmico, sempre acreditando no meu potencial.

A Prof. Silvana Teixeira Carvalho e ao Prof. Jansller Genova, por estarem sempre disponíveis a ajudar.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em especial ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela oportunidade.

Aos meus pais, Jorge e Beatriz Gregory, que nunca mediram esforços para que eu pudesse me dedicar aos estudos durante todos estes anos.

À minha família, que sempre acreditou em mim e me apoiou em todos os momentos da minha vida.

Ao meu namorado, Fabio Batista, por me dar suporte e por não me deixar desistir no momento mais difícil.

A todos os meus colegas e amigos do Grupo de Estudos e Pesquisa em Suínos, por estarem sempre disponíveis para ajudar em todos os momentos e dificuldades.

Aos meus amigos que estiveram presentes durante a pós-graduação, em especial: Cristine Kauffman, Paulo Evaristo Rupolo, Liliana Bury de Azevedo, Maiara Ananda Grando.

Aos parceiros da Nuproxa, pelo incentivo à ciência.

Aos funcionários dos laboratórios e da fazenda experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa, por sempre estarem dispostos a ajudar.

E todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram com esse trabalho.

Muito obrigada!

## **1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> GLICOSÍDEO DE ORIGEM FITOTERÁPICA SUPLEMENTADA EM DIETAS PARA LEITÕES EM FASE DE CRECHE**

RESUMO – O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação de 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo em dietas para leitões sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes, desempenho zootécnico, ocorrência de diarreia, perfil sanguíneo e imunológico, composição físico-química de órgãos e características ósseas. O ensaio de digestibilidade (Exp. I) envolveu 30 leitões machos inteiros, com peso corporal inicial de  $23,87 \pm 3,32$  kg, distribuídos em delineamento de blocos casualizados baseado no peso corporal, com cinco tratamentos: -D<sub>3</sub>= sem fonte suplementar de vitamina D, +D<sub>3</sub>= 100% da exigência de vitamina D suplementada pelo colecalciferol (1969 UI na fase inicial) sem suplementação de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo, D<sub>3</sub>+0,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol + 0,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo, D<sub>3</sub>+1,0= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol + 1,0 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo, e D<sub>3</sub>+1,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol + 1,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo, com seis repetições e um animal por gaiola (unidade experimental). No desempenho zootécnico (Exp. II), um total de 135 leitões machos inteiros, linhagem comercial, desmamados com 25 dias de idade e peso corporal inicial de  $8,02 \pm 0,53$  kg foram designados em delineamento de blocos casualizados, compostos pelos mesmos tratamentos supracitados, com nove repetições no tempo e 3 animais por baia. Houve aumento no CRDM (consumo de ração diário médio) (P=0,0315) para os tratamentos +D<sub>3</sub>, D<sub>3</sub>+0,5 e D<sub>3</sub>+1,0, os leitões que receberam o tratamento D<sub>3</sub>+1,0 apresentaram maior GPD (P=0,0123) e PCF (peso corporal final) (P=0,0123). Houve redução na ocorrência de diarreia em leitões que consumiram o tratamento D<sub>3</sub>+1,0 (P=0,0090). Na fase pré-inicial II a atividade da fosfatase alcalina apresentou aumento em sua concentração em leitões alimentados com o tratamento +D<sub>3</sub> (P=0,0180), a concentração de vitamina D apresentou diminuição (P= 0,0072) para o tratamento -D<sub>3</sub>. A concentração de leucócitos apresentou diminuição para o tratamento D<sub>3</sub>+1,0 (P=0,0327) e a concentração de eosinófilos apresentou redução (P= 0,0054) para o tratamento D<sub>3</sub>+0,5. As variáveis de peso relativo de órgão digestórios e não digestórios, e o pH do conteúdo gastrintestinal não apresentaram efeito dos tratamentos. A percentagem de MO (matéria orgânica) e a MS (matéria seca) do coração dos leitões alimentados com o tratamento D<sub>3</sub>+1,5 aumentou (P=0,0073 e P= 0,0025 respectivamente), e a MO do

fígado e dos rins apresentou aumento para  $-D_3$  ( $P= 0,0001$  e  $P= 0,0023$  respectivamente). A percentagem de MS do fígado foi superior ( $P= 0,0001$ ) para os tratamentos  $-D_3$ ,  $+D_3$  e  $D_3+0,5$ . A MS dos rins e ossos foi superior para o tratamento  $-D_3$  ( $P= 0,0010$  e  $P= 0,0001$ ). A percentagem de cálcio no coração apresentou maior concentração nos leitões que receberam os tratamentos  $+D_3$  e  $D_3+0,5$  ( $P= 0,0249$ ), já a percentagem de cálcio nos ossos apresentou aumento para os leitões que receberam o tratamento  $D_3+1,5$ . Os tratamentos  $-D_3$ ,  $+D_3$  e  $D_3+0,5$  apresentaram aumento nos valores de fósforo no fígado ( $P= 0,0232$ ). As percentagens de magnésio nos ossos apresentaram aumento para os tratamentos  $D_3+1,0$  e  $D_3+1,5$  ( $P=0,0026$ ). As variáveis de desenvolvimento ósseo e saúde intestinal não apresentaram efeito da suplementação da vitamina  $D_3$  e do glicosídeo.

**Palavra-chave:** Cálcio, desenvolvimento ósseo, leitões desmamados, perfil sanguíneo, *Solanum glaucophyllum*, vitamina  $D_3$ .

## **1,25(OH)2D3 GLYCOSIDE OF HERBAL ORIGIN SUPPLEMENTED IN DIETS FOR PIGLETS IN NURSING PHASE**

**ABSTRACT** – The aim of this study was to evaluate the effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol glucoside supplementation in diets for piglets on the apparent digestibility of nutrients, zootechnical performance, occurrence of diarrhea, blood and immunological profile, physical-chemical composition of organs and bone characteristics. The digestibility trial (Exp. I) involved 30 male piglets, with initial body weight of  $23.87 \pm 3.32$  kg, distributed in a randomized block design based on body weight, with five treatments: -D3= without supplementary source of vitamin D, +D3= 100% vitamin D requirement supplemented by cholecalciferol (1969 IU in the initial phase) without 1,25(OH)2D3 glucoside supplementation, D3+0.5= 100% vitamin D requirement supplemented with cholecalciferol + 0.5  $\mu\text{g}$  1,25(OH)2D3 glycoside, D3+1.0= 100% vitamin D requirement supplemented with cholecalciferol + 1.0  $\mu\text{g}$  1,25(OH)2D3 glycoside, and D3+1.5= 100% vitamin D requirement supplemented with cholecalciferol + 1.5  $\mu\text{g}$  of 1,25(OH)2D3 glycoside, with six replicates and one animal per cage (experimental unit). In the zootechnical performance (Exp. II), a total of 135 male piglets, commercial strain, weaned at 25 days of age and initial body weight of  $8.02 \pm 0.53$  kg were assigned in a randomized block design, composed of the same treatments mentioned above, with nine repetitions in time and 3 animals per pen. There was an increase in CRDM (mean daily feed intake) ( $P=0.0315$ ) for treatments +D3, D3+0.5 and D3+1.0, piglets that received treatment D3+1.0 had higher ADG ( $P=0.0123$ ) and PCF (final body weight) ( $P=0.0123$ ). There was a reduction in the occurrence of diarrhea in piglets that consumed the D3+1.0 treatment ( $P=0.0090$ ). In the pre-initial phase II, alkaline phosphatase activity showed an increase in its concentration in piglets fed with the +D3 treatment ( $P=0.0180$ ), the vitamin D concentration showed a decrease ( $P=0.0072$ ) for the treatment – D3. The concentration of leukocytes showed a decrease for the D3+1.0 treatment ( $P=0.0327$ ) and the concentration of eosinophils showed a reduction ( $P=0.0054$ ) for the D3+0.5 treatment. The variables of relative weight of digestive and non-digestive organs, and the pH of the gastrointestinal content showed no effect of the treatments. The percentage of MO (organic matter) and DM (dry matter) in the heart of piglets fed with the D3+1.5 treatment increased ( $P=0.0073$  and  $P=0.0025$  respectively), and the MO of the liver and of the kidneys showed an increase for -D3 ( $P=0.0001$  and  $P=0.0023$  respectively). Liver DM percentage was higher ( $P=0.0001$ ) for

treatments -D3, +D3 and D3+0.5. The DM of the kidneys and bones was higher for the -D3 treatment (P= 0.0010 and P= 0.0001). The percentage of calcium in the heart showed a higher concentration in the piglets that received the +D3 and D3+0.5 treatments (P= 0.0249), while the percentage of calcium in the bones showed an increase in the piglets that received the D3+0,5 treatment. Treatments -D3, +D3 and D3+0.5 showed an increase in liver phosphorus values (P= 0.0232). The percentages of magnesium in the bones increased for treatments D3+1.0 and D3+1.5 (P=0.0026). The bone development and intestinal health variables showed no effect of vitamin D3 and glycoside supplementation.

**Keyword:** Calcium, bone development, weaned piglets, blood profile, *Solanum glaucophyllum*, vitamin D3.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição da dieta referência (controle negativo) fornecida aos leitões no ensaio de digestibilidade (como base alimentada, g kg <sup>-1</sup> de dieta).....	28
<b>Tabela 2.</b> Composição das dietas experimentais referência (controle negativo) fornecidas para os leitões de creche (como base alimentada, g kg <sup>-1</sup> de dieta). .....	31
<b>Tabela 3.</b> Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), nutrientes digestíveis e balanço de nutrientes de suínos alimentados com dietas suplementadas com 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> -glicosídeo (Exp. I) <sup>1</sup> .....	38
<b>Tabela 5.</b> Desempenho zootécnico e ocorrência de diarreia em suínos na fase de creche alimentados com dietas suplementadas com 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> -glicosídeo (Exp. II) <sup>1</sup> .....	40
<b>Tabela 6.</b> Perfil bioquímico sanguíneo de suínos na fase de creche alimentados com dietas suplementadas com 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> -glicosídeo (Exp. II) <sup>1</sup> .....	41
<b>Tabela 7.</b> Hemograma sanguíneo de leitões na fase de creche alimentados com dietas suplementadas com 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> -glicosídeo (Exp. II) <sup>1</sup> .....	42
<b>Tabela 8.</b> Peso relativo de órgãos, comprimento dos intestinos delgado e grosso, e pH do conteúdo do trato digestório de leitões na fase de creche alimentados com dietas suplementadas com 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> -glicosídeo aos 35 dias de idade (Exp. II) <sup>1</sup> .....	43
<b>Tabela 9.</b> Composição físico-química de órgãos e ossos de suínos na fase de creche alimentados com dietas suplementadas com 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> -glicosídeo aos 35 dias de idade (Exp. II) <sup>1</sup> .....	45
<b>Tabela 10.</b> Morfometria, resistência e densitometria óssea de metacarpos, metatarsos e fêmures de suínos na fase de creche alimentados com dietas suplementadas com 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> -glicosídeo no dia 35 (Exp. II) <sup>1</sup> .....	46
<b>Tabela 11.</b> Morfometria jejunal de leitões alimentados com dietas suplementadas com 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> -glicosídeo no dia 35 (Exp. II) <sup>1</sup> .....	47

## SUMARIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	11
<b>2</b>	<b>Revisão</b>	13
2.1.	Vitamina D – aspectos gerais	13
2.2.	<i>Solanum glaucophyllum</i>	14
2.3.	Metabolismo da vitamina D	14
2.4.	Metabolismo do cálcio, fósforo e magnésio	16
2.5.	Desenvolvimento ósseo	18
2.6.	Ações da vitamina D no organismo	20
2.7.	Vitamina D para Suínos	21
2.8.	Referências	23
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	27
3.1.	Experimento I – Coeficientes de digestibilidade aparente e nutrientes digestíveis	27
3.1.1.	Animais, delineamento experimental, alojamento e dietas	27
3.1.2.	Amostragem no período de coleta total	29
3.2.	Experimento II – Desempenho zootécnico	30
3.2.1.	Animais, delineamento, alojamento e tratamentos dietéticos	30
3.2.2.	Desempenho zootécnico e ocorrência de diarreia	32
3.2.3.	Perfil bioquímico e imunológico sanguíneos	32
3.2.4.	Peso relativo e composição físico-química dos órgãos e ossos, e pH do conteúdo do trato digestório	33
3.2.5.	Características ósseas	34
3.2.6.	Morfometria intestinal	35
3.2.7.	Procedimentos estatísticos	36
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	38
a.	Coeficientes de digestibilidade aparente, nutrientes digestíveis e balanço de nutrientes	38
b.	Desempenho zootécnico e ocorrência de diarreia	39
c.	Perfil bioquímico e imunológico sanguíneos	41
d.	Peso relativo de órgãos e pH do conteúdo do trato digestório, e composição físico-química dos órgãos e ossos	43
e.	Características ósseas	46
f.	Morfometria jejunal	47

<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	48
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	51
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	52

## 1 INTRODUÇÃO

Pela falta de exposição ao sol devido ao sistema intensivo de criação, bem como pelo fato de a vitamina D dificilmente ser encontrada em quantidades majoritárias nos alimentos em geral, os suínos requerem suplementação da vitamina D (HOLLIS, 2005). A suplementação de vitamina D na alimentação dos suínos é geralmente realizada sinteticamente na forma de colecalciferol, que passa por um processo de ativação no organismo animal.

A vitamina D pode ser encontrada de diferentes formas, como a vitamina D<sub>2</sub> (ergocalciferol) e/ou a vitamina D<sub>3</sub> (colecalciferol). A vitamina D<sub>2</sub> é encontrada nas plantas, enquanto a vitamina D<sub>3</sub> é sintetizada na pele através da exposição à luz solar e também pode ser adquirida via alimentação, como produtos de origem animal (BARRAL et al., 2007). Em adição, a vitamina D é conhecida pela sua essencialidade na homeostase mineral e no metabolismo ósseo (TRAUTENMULLER et al., 2021).

A *Solanum glaucophyllun*, que tem nome popular de Espichadeira é uma planta que apresenta glicosídeos análogos aos metabolitos ativos da vitamina D<sub>3</sub>, principalmente na forma de 1,25-dihidroxicolecalciferol. Diferentemente da 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, que possui uma rápida absorção por estar prontamente disponível, a 1,25-dihidroxicolecalciferol-glicosídeo necessita de uma quebra no glicosídeo para ser absorvida (ZIMMERMAN et al., 2015).

Tousignant et al. (2013), forneceram o calcidiol (25(OH)D<sub>3</sub>) via oral para leitões de dois dias de idade durante a fase de lactação e após o desmame, e observaram que o peso corporal médio foi maior em animais que receberam o tratamento contendo 25(OH)D<sub>3</sub>, assim como a concentração sérica de 25(OH)D<sub>3</sub> foi maior aos 26 dias após o desmame.

De acordo com pesquisas conduzidas por Yang e Ma (2021), leitões recém-desmamados alimentados com dietas suplementadas com vitamina D<sub>3</sub> apresentaram melhora nas funções imunológicas, sugerindo que a necessidade de 220 UI de vitamina D kg<sup>-1</sup> de dieta (NRC, 2012) pode não ser suficiente para leitões desmamados.

Em estudos avaliando níveis de colecalciferol e suplementação de 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo na dieta de leitões, foram analisados a biometria e composição físico-química de órgãos, pH do conteúdo do trato digestivo e características ósseas, e assim, foi possível concluir que o uso de 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo isolada em dietas de leitões não influencia negativamente o pH do trato gastrointestinal e a composição físico-química dos órgãos. Além disso, o uso de dietas com 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo como um substituto para o colecalciferol reduz o peso do baço e promove melhorias no desenvolvimento ósseo (TRAUTENMÜLLER et al., 2021).

Assim, esse estudo foi conduzido baseado na hipótese de que a suplementação de 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo aumentaria a absorção intestinal de cálcio e fósforo, refletindo em melhorias no desempenho e desenvolvimento do tecido ósseo, bem como na promoção da saúde integral em leitões de creche.

Portanto, este estudo objetivou analisar os efeitos da suplementação com 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-glicosídeo na dieta de leitões sobre a digestibilidade aparente do trato total dos nutrientes, desempenho zootécnico, ocorrência de diarreia, perfil bioquímico e imunológico sanguíneos, composição físico-química de órgãos e ossos, características ósseas, e do trato gastrintestinal.

## 2 Revisão

### 2.1. Vitamina D – aspectos gerais

As vitaminas são substâncias encontradas em alimentos em quantidades significativamente pequenas, mas que são essenciais ao organismo animal para realizar as funções metabólicas.

As vitaminas são classificadas em duas categorias: as lipossolúveis e hidrossolúveis. As vitaminas lipossolúveis são: A, D, E e K, e são moléculas apolares, ou seja, não são solúveis em água e dependem de todos os componentes lipídicos envolvidos na formação da micela, da bile e do suco pancreático para que a sua absorção ocorra (MOURÃO et al., 2005). Já as vitaminas hidrossolúveis são consideradas um grupo mais amplo, composto pelas vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piridoxina, ácido fólico, biotina e cobalamina) e a vitamina C. A absorção das vitaminas hidrossolúveis depende do transporte ativo e passivo, de acordo com a quantidade presente na dieta.

Como já dito anteriormente, a vitamina D é classificada como lipossolúvel, que pode ser encontrada de duas formas diferentes: o ergocalciferol ou vitamina D<sub>2</sub>, proveniente do ergosterol de origem vegetal, e o colecalciferol ou vitamina D<sub>3</sub>, sintetizado a partir do colesterol que pode ser adquirida na dieta de origem animal ou através da exposição à luz solar (BARRAL et al., 2007).

Quando se fala das formas da vitamina D, o que as difere é a cadeia lateral com a presença de uma dupla ligação e um grupo metil incorporados na cadeia lateral (BARRAL et al., 2007).

A vitamina D é um hormônio esteroide (GALVÃO et al., 2013), que pode ser formado na epiderme, após a exposição à luz solar, mais especificamente na camada de Malpighi, através da fotólise (BARRAL et al., 2007), e também pode ser obtida através da suplementação ou ingestão de alimentos que contenham a vitamina D (GALVÃO et al., 2013).

A principal função da vitamina D é manter as concentrações séricas e extracelulares de cálcio e fósforo em níveis adequados, sendo um fator que pode estimular a absorção intestinal de cálcio e fósforo (PREMAOR & FURLANETTO, 2006), e conseqüentemente, aumentando a absorção renal de cálcio, mobilizá-lo a partir do osso na presença de paratormônio (PTH), fazendo assim a regulação do metabolismo ósseo (HOSSEIN-NEZHAD & HOLICK, 2014).

A vitamina D tem outras funções que vão além da regulação do cálcio e fósforo nos

ossos (PREMAOR & FURLANETTO, 2006), estando relacionada à inibição da produção de renina (HOSSEIN-NEZHAD & HOLICK, 2014), na regulação do magnésio, e na liberação de insulina pelo pâncreas (HOLICK, 2009).

A falta da vitamina D no organismo pode desencadear problemas como hipocalcemia leve, hiperparatireoidismo secundário, osteomalácia e raquitismo (MAIA et al., 2007). Já o excesso da vitamina D pode ocasionar o aumento da absorção intestinal de cálcio e fósforo, ocasionando a hipercalcemia, hipercalcúria e hiperfosfatemia, resultando em calcificações de tecidos moles e fraquezas, e em casos graves, pode levar ao óbito (CHESNEY., 2011).

## 2.2. *Solanum glaucophyllum*

A planta *Solanum glaucophyllum*, popularmente conhecida como “espichadeira” é uma espécie da família Solanaceae (OKADA et al., 1977). Ela 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-dihidroxicolecalciferol de 8,6 a 100  $\mu\text{g g}^{-1}$  nas folhas secas. Entretanto, essa variação de quantidade dependerá das condições ambientais de cultivo e da genética segundo a European Food Safety Authority (2015).

A *Solanum glaucophyllum* é amplamente distribuída no sudeste da América do Sul. A ingestão da folha pode causar uma síndrome de “definhamento” em bovinos, devido à hipercalcemia e nefrocalcinose. Estudos feitos para entender os fatores responsáveis pela doença demonstraram que a planta contém um material solúvel em água que estimula o metabolismo do cálcio de forma semelhante a 1,25-dihidroxicolecalciferol (WORKER e CARRILLO, 1967).

Posteriormente, foi descoberto que as folhas continham formas glicosídicas de 1,25-dihidroxicolecalciferol, que explicava as características solúveis em água e a falta de atividade biológica, até que os glicosídeos fossem clivados por bactérias presentes no rumem para liberar a 1,25-dihidroxicolecalciferol (HAUSSLER et al., 1977). Os humanos e animais monogástricos também abrigam bactérias com atividade de  $\beta$ -glicosidas, mas apenas no intestino grosso (HAUSSLER et al., 1977).

## 2.3. Metabolismo da vitamina D

A vitamina D é considerada um composto inativo, ou seja, ela precisa ser metabolizada para se tornar ativa, e com isso, realizar as várias funções que tem no organismo (CÂMARA

et al., 2021).

Na pele dos seres vivos é produzido um precursor chamado de 7-deidrocolesterol, ou também conhecido como pró-vitamina D<sub>3</sub>, que quando entra em contato com a luz ultravioleta entre 290 nm a 315 nm, forma duplas pontes de hidrogênio nos carbonos C5 e C7, resultando na pré-vitamina D (PREMAOR e FURLANETTO, 2006). Quando produzida, na pele a pré-vitamina D forma homodímeros em aproximadamente 24 horas, e por ser termoinstável sofre uma reação de isomerização induzida pelo calor transformando-se em Vitamina D (PREMAOR e FURLANETTO, 2006).

Quando suplementada na dieta, por ser lipossolúvel, é necessária a formação de micelas na luz intestinal através de sais biliares conjugados para manter-se em suspensão no lumen intestinal, onde será absorvida pela membrana do enterócito por difusão simples (SANTANA et al., 2017). Dentro da célula é metabolizada a quilomícrons e transportada pelo sistema linfático, após alcançar a corrente sanguínea é incorporada no fígado, e em seguida, o metabolismo da vitamina D ingerida e da sintetizada na pele a partir da 7-deidrocolesterol é semelhante (PREMAOR e FURLANETTO, 2006).

No fígado, a vitamina D sofre uma hidroxilação no carbono 25, assim convertida em 25-hidroxicolecalciferol ou também conhecida como calcidiol (25(OH)D<sub>3</sub>), sendo a principal forma circulante da vitamina (TRAUTENMÜLLER et al., 2019). Esta primeira hidroxilação ocorre pela ação da enzima 25-hidroxilase (SANTANA et al., 2017).

A 25(OH)D<sub>3</sub>, se liga a proteína ligadora de vitamina D (DBP - *vitamin D binding protein*) e é transportada para vários tecidos (principalmente o rim), os quais contêm a enzima 1- $\alpha$ -hidroxilase (CYP27B1), que é uma proteína mitocondrial da família do CYP450, responsável por promover a hidroxilação do carbono 1 da 25(OH)D<sub>3</sub>, formando a 1- $\alpha$ ,25-dihidroxicolecalciferol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> ou calcitriol) que é a molécula metabolicamente ativa da vitamina D (CASTRO, 2011).

A DBP apresenta uma alta taxa de recaptção pelas células dos túbulos proximais, o que evita a perda urinária dos metabólitos do grupo da vitamina D, e concentra a 25(OH)D<sub>3</sub> nos túbulos renais, onde ocorrerá a conversão em 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (CASTRO, 2011).

Sintetizada no fígado, a DBP é a principal forma de transporte da vitamina D, tendo uma vida biológica de aproximadamente 2,5 dias, a quantidade de DBP no organismo é considerada maior que a quantidade de 25(OH)D<sub>3</sub>, isso se deve a uma proteção contra a intoxicação causada pela vitamina D livre (SPEECKAERT et al., 2006).

A 1- $\alpha$ -hidroxilase pode ser encontrada em vários tecidos, entre eles as células da mama, da próstata, do cólon e células do sistema imune, células betapancreaticas, paratireoides,

placenta, cérebro, células endoteliais e queratinócitos (CASTRO, 2011). A regulação da 1- $\alpha$ -hidroxilase nos rins é feita principalmente pelo paratormônio (PTH) estimulando a sua produção, e suprimidos pela concentração de fósforo, fator de crescimento do fibroblasto 23 (FGF-23) e pela proteína Klotho (WÖHRLE et al., 2011).

A 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> quando em outros tecidos executa funções autócrinas e parácrinas, e suas ações são controladas pelo seu receptor (VDR, *vitamin D receptor*). Este pertence à família de receptores hormonais nucleares 1 (CASTRO, 2011). O VDR atua através de uma heterodimerização com uma das três isoformas do receptor retinoide X (RXR): a 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> se liga ao VDR induzindo uma alteração na conformação e com isso forma um complexo transcricional hormônio-receptor (ROCHEL et al., 2000). O complexo hormônio-receptor é heterodimerizado com o RXR e esse heterodímero 1,25(OH)<sub>2</sub>D-VDR-RXR se acopla a uma sequência específica do DNA nos seus genes-alvos, denominada como VDRE (*vitamin D response element*) (ROCHEL et al., 2000). A transcrição de genes de diversas proteínas, como a osteocalcina, fosfatase alcalina e a proteína transportadora de cálcio (calbindina) ocorre através da ligação da 1,25(OH)<sub>2</sub>D-VDR-RXR (BARRAL et al., 2007).

O metabolismo da vitamina D é essencial para a homeostase mineral e para o metabolismo ósseo. O calcitriol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) é responsável pela regulação do metabolismo do cálcio e fósforo, através da modulação da absorção intestinal e reabsorção renal, mantendo-os em concentrações plasmáticas suficientes para a adequada mineralização e crescimento ósseo (CASTRO, 2011).

#### 2.4. Metabolismo do cálcio, fósforo e magnésio

O cálcio e o fósforo são minerais de grande importância, sendo os mais abundantes no organismo, onde 96% a 99% do cálcio e 60% a 80% do fósforo estão armazenados nos ossos, já o restante está circulante no plasma segundo Suttle (2010). Cálcio e fósforo são minerais que possuem grandes interações a nível metabólico, de tal maneira que a carência ou excesso de um afeta o metabolismo do outro (SANTANA et al., 2017).

O cálcio é responsável por desempenhar várias funções fisiológicas no organismo, é um mensageiro intracelular essencial e um cofator de várias enzimas, além de possuir também funções extracelulares como a coagulação do sangue e a modulação da excitabilidade neuromuscular. Deste modo, a concentração de cálcio é importante para o controle de diversas funções no organismo animal (TRAUTENMULLER et al., 2019).

O metabolismo do cálcio e do fósforo são afetados por vários fatores: a relação de

cálcio e fósforo na dieta, a presença da vitamina D, a biodisponibilidade do cálcio e do fósforo nas fontes utilizadas nas dietas e a idade dos animais (SANTANA et al., 2017).

A necessidade de cálcio depende do seu próprio estado metabólico, o qual é regulado por três mecanismos: absorção intestinal, reabsorção renal e remodelação óssea. A regulação desse sistema é controlada pelo sistema endócrino, que inclui a interação de alguns hormônios como o PTH (paratormônio), calcitriol (1,25-dihidroxicolecalciferol) e calcitonina (FURLAN e POZZA, 2014).

A maior parte do cálcio ingerido é absorvido no intestino delgado, principalmente no duodeno e jejuno, totalizando mais de 90% da absorção diária (SCHRÖDER & BREVES, 2006). A absorção do cálcio pode decorrer de duas formas: a transcelular ou forma ativa, que ocorre no duodeno e no início do jejuno, e a forma paracelular ou passiva, que ocorre em todo o intestino. A absorção transcelular ocorre através da captação do cálcio no lúmen intestinal pela borda em escova e a absorção através de mecanismos envolvendo canais de cálcio e um transportador de membrana, já o transporte dentro do enterócito é através da calbindina, que transporta mais que 90% do fluxo de cálcio transcelular (SUTTLE, 2010).

O cálcio chega ao sistema circulatório através de mecanismos que são facilitados por uma ATPse. A absorção ativa é muito importante por garantir concentrações corporais adequadas de Ca mesmo quando os níveis dietéticos são baixos, pois este tipo de transporte é mediado pela  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  que interage com receptores localizados no epitélio intestinal e realiza a transcrição das proteínas transportadoras de cálcio (DUKES, 2015).

O transporte transcelular de cálcio ocorre do lumen intestinal em direção ao capilar sanguíneo, por processo ativo na sua maior parte, por diferença de potencial eletroquímico transepitelial, através da borda em escova do enterócito (LIANG et al., 1991). Na borda em escova, o cálcio liga-se a calbindina, ligação esta necessária para manutenção de cálcio em solução, já que é pouco solúvel em meio aquoso (BOURDEAU et al., 1994).

O cálcio se liga à calbindina quando se encontra no interior da célula epitelial tubular dos rins, se difundindo pela membrana basolateral (TRAUTENMULLER et al., 2019). A calbindina é encontrada no citosol das células que revestem a parte distal do néfron, e é uma proteína de ligação dependente de vitamina D que facilita a difusão do cálcio no citosol a partir dos locais de influxo apical para os de efluxo basolateral (TRAUTENMULLER et al., 2019).

O cálcio é transportado da célula para o espaço intersticial através de um trocador  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  e por um cálcio ATPse. Esse processo ocorre de maneira semelhante no intestino (TRAUTENMULLER et al., 2019).

Assim como o cálcio, o fósforo é um mineral muito importante para os ossos, e o segundo mais abundante neste tecido. O fósforo encontrado no organismo em sua grande maioria está complexado com o oxigênio formando um ânion chamado de fosfato, componente de ATPs (moléculas que transferem energia), de fosfolipídeos, fosfoproteínas e de ácidos nucleicos (DUKES, 2015). Aproximadamente 30% do fósforo sanguíneo está sob a forma de fosfato inorgânico, o restante está incorporado a moléculas orgânicas (DUKES, 2015).

Quando há falta de cálcio, o paratormônio (PTH) é liberado para que ocorra a reabsorção óssea, contudo o PTH também tem outra função, agindo no aumento da excreção renal de fósforo, por esse motivo, quando algum animal apresenta hipocalcemia há uma grande probabilidade de apresentarem hipofosfatemia (TRAUTENMULLER et al., 2021).

A  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  regula a absorção de cálcio, bem como a absorção de fósforo no intestino delgado por transporte ativo, agindo no aumento do número de sítios carreadores dependentes de sódio-fosfato na membrana da mucosa. Com isso, as concentrações de fósforo também são responsáveis por determinar a conversão de  $25(\text{OH})\text{D}_3$  em  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , aumentando quando o mineral estiver em níveis baixos ou deficientes (DUKES, 2015).

Cerca de 30 a 50% do magnésio proveniente da alimentação é absorvido ao longo do intestino, em um processo que depende das reservas do organismo e do seu aporte na dieta. O principal local de absorção do magnésio é no intestino delgado, entre o duodeno e íleo, sendo que este pode ocorrer por transporte ativo transcelular ou passivo paracelular (Soares et al., 2015).

A deficiência de magnésio pode decorrer tanto da ingestão inadequada, quanto pela excreção aumentada, a homeostase desse nutriente no organismo é regulada principalmente pelos rins (Soares et al., 2015).

## 2.5. Desenvolvimento ósseo

Os ossos possuem função estrutural para o organismo animal, como sustentação para o esqueleto e proteção dos órgãos, além disso, têm grande importância para o cálcio e fósforo, servindo como reservatório para ambos, o que garante a manutenção das concentrações adequadas no plasma e fluido extracelular.

A base da formação do osso é a cartilagem, mais especificamente a cartilagem hialina, que é composta por uma matriz com delicadas fibrilas constituídas de colágeno tipo II. A

cartilagem hialina é a base para o crescimento dos ossos longos e forma a placa de crescimento desses ossos em animais jovens (HOLICK, 2005).

A cartilagem é formada por células chamadas de condrócitos e material extracelular, a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  atua diretamente nos condrócitos da placa de crescimento, que manifestam a enzima 1- $\alpha$ -hidroxilase, ali a vitamina D apresenta funções autócrinas, como a diferenciação celular, angiogênese e osteogênese (NAJA et al., 2009).

Dentro do osso, mais especificamente na cavidade medular, ocorre a formação de células sanguíneas e a região calcificada é um depósito de minerais (DUKES, 2015). Quatro tipos de células distintas participam da formação, reabsorção, manutenção e remodelação óssea, estas procedem de duas linhagens: uma relacionada a formação e manutenção que são os osteoblastos, células de revestimento ósseo e os osteócitos, e outra relacionada a reabsorção que são os osteoclastos (ANDIA et al., 2006).

Os osteoblastos são células mononucleares que formam uma camada celular contínua sobre a superfície óssea que está sendo formada, eles são responsáveis pela produção da matriz orgânica do osso da sua mineralização, além disso, eles funcionam também como receptores e transmissores de sinais para remodelação óssea, pois possuem receptores para hormônios como o da tireoide, o PTH, a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , insulina, estrogênios e glicocorticoides (CERRI, 2005).

As células de revestimento correspondem aos osteoblastos que recobrem as superfícies ósseas em repouso, estas células apresentam poucas organelas de síntese e secreção de proteínas, formando uma camada contínua de células interconectadas que são capazes de manter a homeostase e com isso regulam a concentração plasmática de cálcio através de mecanismos independentes ao do sistema de remodelação óssea (MUNDY, 1991).

Os osteócitos são osteoblastos, que ao secretarem a matriz óssea ficam aprisionados em seu interior, formando lacunas, e apresentam uma diminuição gradativa na quantidade de organelas de síntese e de secreção (SODEK & MCKEE, 2000). Os osteócitos são as células mais abundantes no tecido ósseo (MUNDY, 1991).

Os osteoclastos são células grandes, com mais de um núcleo, formadas pela união de células mononucleadas da linhagem hematopoética (SODEK & MCKEE, 2000). Os osteoclastos são responsáveis pela mobilização óssea e após podem migrar para outros sítios onde o tecido ósseo pode ser reabsorvido, bem como se deslocar da superfície óssea e permanecer inativos (ANDIA et al., 2006).

O tecido ósseo está em constante modificação de forma ou estrutura, seja para um osso primário se tornar maduro, para crescer mantendo a sua forma, para um osso esponjoso se

tornar compacto, ou em situações fisiológicas ou patológicas, isso através de reabsorção e deposição de matriz óssea. A formação óssea envolve a proliferação e migração das células osteoprogenitoras (células de repouso ou de reserva) e a diferenciação dos osteoblastos. A  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , o paratormônio, esteroides sexuais, prostaglandina e citocinas são fatores que agem diretamente nos osteoblastos para controlar a mobilização óssea. Assim os osteoblastos participam do processo de remodelação óssea também e não somente da produção da matriz óssea (ANDIA et al., 2006).

O desenvolvimento e a homeostase do sistema esquelético são dependentes de uma remodelação óssea que esteja sempre em equilíbrio, ou seja, de uma atividade balanceada entre osteoblastos e osteoclastos e a  $1,25$ dihidroxicolecalciferol tem relação direta com esse equilíbrio (TAKAYANAGI, 2005).

## 2.6. Ações da vitamina D no organismo

A vitamina D possui funções que vão além da homeostase osteomineral, como por exemplo, a interação da vitamina D com o sistema imunológico, que vão desde a resposta imune inata à infecção e a modulação da subsequente atividade adaptativa dos linfócitos (Adams e Hewison, 2008). A  $1,25$ dihidroxicolecalciferol possui importante papel imunorregulatório autocrino em diversas células do sistema imunológico, participando da regulação da diferenciação das células precursoras em células do sistema monocítico-macrofaico (Hewison, 2010a). Além disso, a  $1,25$ -dihidroxicolecalciferol atua na modulação da autoimunidade, mantendo o equilíbrio entre as respostas Th1 (celular) e Th2 (humoral) (Hewison, 2010b).

O complexo  $1,25(\text{OH})_2 \text{D-VDR}$  participa do controle de diferentes etapas do ciclo celular, através da modulação da ativação ou repressão de genes que participam da sinalização dos processos de diferenciação, multiplicação e apoptose celular (Castro, 2011).

No sistema reprodutivo a  $1,25$ dihidroxicolecalciferol e o VDR participam da regulação de esteroidogênese dos ovários e testículos, alguns dados também sugerem que ela também participe do controle da foliculogênese, da espermatogênese e como consequência dos processos envolvidos na fertilidade do indivíduo (Jensen et al., 2010).

Outra importante função da  $1,25$ -dihidroxicolecalciferol é a participação no controle da função cardíaca e da pressão arterial através da regulação do crescimento das células musculares lisas, do grau de contratilidade do miocárdio e da inibição da renina, interferindo no sistema renina-angiotensina-aldosterona (SIMPSON et al., 2007). Estudos mostram que

1,25-dihidroxicolecalciferol participa da regulação do crescimento de miócitos e do volume da massa muscular, do tônus e da força muscular, através de ações genômicas e não genômicas, por meio do controle do influxo de  $\text{Ca}^{2+}$  e mudanças na voltagem das membranas das fibras musculares (Castro, 2011).

A 1,25-dihidroxicolecalciferol tem influência na homeostase glicídica, mediada por ações diretas nas células betapancreáticas. Os possíveis mecanismos envolvidos no controle da síntese e secreção da insulina envolveriam a modulação do influxo e da reserva de cálcio no citosol, por mecanismos rápidos não genômicos do VDR na membrana das células betapancreáticas.

## 2.7. Vitamina D para Suínos

A produção de suínos vem se intensificando a cada ano e com isso faz-se necessário a modernização das instalações. A criação do suíno comercial passou a ser totalmente em sistema fechado, diminuindo o contato do suíno com o sol para quase zero, e assim, a suplementação da vitamina D na dieta dos suínos é necessária para manter o adequado desenvolvimento do animal.

Se sabe que os leitões nascem com uma menor concentração sanguínea de 25(OH)D<sub>3</sub>, o que pode aumentar a susceptibilidade à deficiência de vitamina D (ARNOLD et al., 2015), dessa forma é de extrema importância fazer uma correta suplementação deste nutriente na dieta dos leitões.

As exigências nutricionais de vitamina D para leitões em fase de crescimento são de 2707 UI na fase pré-inicial I, 2405 UI na fase pré-inicial II, 1969 UI na fase inicial, 1599 UI na fase de crescimento I e 1324 UI na fase de crescimento II (ROSGNO et al, 2017).

A deficiência de vitamina D prejudica o crescimento e desenvolvimento dos leitões e pode desencadear vários problemas, que normalmente são locomotores. Os animais podem desenvolver articulações aumentadas e/ou rígidas, ossos frágeis e quebradiços, pernas arqueadas, e em casos mais severos, o raquitismo e a paralisia posterior, bem como ossos frágeis e quebradiços (YANG & MA, 2021).

Períodos de rápido crescimento são indicações prováveis de crescimento esquelético desequilibrado. Por isso, é chamado de janela da susceptibilidade o período do desmame até os 84 dias de idade, quando a cartilagem em maturação é mais vulnerável ao surgimento de lesões osteocondróticas. Suínos que apresentaram um rápido crescimento entre 28 e 35 dias de idade apresentaram osteocondrose grave na idade de abate e entre 56 e 84 dias

apresentaram osteocondrose leve, porém, após 90 dias de idade, o ganho de peso não teve relação com o surgimento da osteocondrose (VAN GREVENHOF et al., 2012).

A janela da susceptibilidade nos suínos ocorre entre aproximadamente 8 e 13 semanas de idade, pois é neste período que estão presentes os vasos temporais e vasos recém-formados na cartilagem, e é neste local que a interrupção do suprimento sanguíneo resulta em osteocondrose, portanto medidas profiláticas podem ser tomadas neste período de tempo (YTREHUS et al., 2007).

Experimentos realizados com fêmeas suínas em gestação e lactação recebendo diferentes níveis de vitamina D apontam redução de 25% do conteúdo mineral ósseo de todo o corpo, propriedades de resistência e mecânica do fêmur comprometidos e anormalidades macroscópicas nas placas de crescimento dos fêmures e vertebrae dos leitões recém-nascidos, do desmame e no final da fase de creche dos leitões nascidos das fêmeas, recebendo dietas isentas de vitamina D<sub>3</sub> (AMUNDSON et al., 2017).

Mais experimentos utilizando a forma ativa da vitamina D<sub>3</sub> na alimentação dos suínos nas suas diversas fases de produção são necessários para entendermos os seus efeitos e benefícios no desempenho e no desenvolvimento dos ossos e órgãos.

## 2.8. Referências

- ADAMS, J.S.; HEWISON, M. Ações inesperadas da vitamina D: novas perspectivas na regulação da imunidade inata e adaptativa. **Nat Clin Pract Endocrinol Metab.** v.4, p.80–90, 2008.
- AMUNDSON, L.A.; HERNANDEZ, L.L.; CRENSHAW, T.D. Serum and tissue 25-OH vitamin D<sub>3</sub> concentrations do not predict bone abnormalities and molecular markers of vitamin D metabolism in the hypovitaminosis D kyphotic pig model. **British Journal of Nutrition.** v.118, n.1, p.30-40, 2017.
- ANDIA, D.C.; CERRI, P.S.; SPOLIDORIO, L.C. Tecido ósseo: aspectos morfológicos e histofisiológicos. **Revista de odontologia da UNESP.** v.35, n.2, p.191-198, 2006.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL – ABPA. **Relatório anual.** São Paulo, SP, 2022. 144p.
- BARRAL, D.; BARROS, A.C.; ARAÚJO, R.P.C.; Vitamina D: uma abordagem molecular. **Pesquisa Brasileira de Odontopediatria Clínica Integrada,** n. 7, v.3, p. 309-315, 2007.
- BOURDEAU JE, ATTIE MF: CALCIUM METABOLISM. IN MAXWELL & KLEEMAN'S: Clinical disorders fluids and eletrolites metabolism. **McGraw Hill,** n.5, p. 243-306, 1994.
- CÂMARA, J.L.; BOAS, R.R.V.; NETO, L.F.C.N.; SANTOS, S.D.G. Vitamina D: uma revisão narrativa. **Brazilian Journal of Health Review.** v.4, n.2, p.5904-5920, 2021.
- CASTRO, L.C.G. O sistema endocrinológico vitamina D. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia.** v.55, n.8, 2011.
- CERRI, PS. Osteoblasts engulf apoptotic bodies during alveolar bone formation in the rat maxilla. **Anatomical Record Part A Discoveries in Molecular Cell Evol Biol.** v.286, p.833-840, 2005.
- CHESNEY, R.W. The five paradoxes of vitamin D and the importance of sunscreen protection. **Clinical Pediatrics.** v.51, n.9, p.819-827, 2011.
- DUKES, H.H.; REECE, W.O. **Fisiologia dos animais domésticos.** 12<sup>a</sup> edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. 926p.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. **Scientific opinion on the safety of Solanum glaucophyllum standardised leaves as feed material,** EFSA, Parma, 2015.
- FURLAN, A.C.; POZZA, P.C. **Exigências de Minerais para Suínos.** In: SAKOMURA, N.K.; et al. Nutrição de Não Ruminantes. Jaboticabal: Funep, 1 a ed., 2014.
- GALVÃO, L.B.; GALVÃO, M.F.; REIS, C. M.S.; BATISTA, C.M.A.; CASULARI, L.A. Considerações atuais sobre a vitamina D. **Revista Brasília Médica.** v.50, n.4, p.324-332, 2013.
- HAUSSLER, M.R.; HUGHES, M.R.; MCCAIN, T.A.; ZERWEKH, J.E.; BRUMBAUGH, P.F.; JUBIZ, W.; WASSERMAN, R.H. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>: mode of action in intestine and parathyroid glands, assay in humans and isolation of its glycoside from Solanum malacoxylon, **Calc. Tissue Res.** v.22, p.1-18, 1977.

- HOLICK, M.F. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. **Mayo Clinic Proceedings**. v.81, n.3, p.353-373, 2006.
- HOLICK, M.F. The vitamin D epidemic and its health consequences. **American Society for nutrition**. v.135, p.2739-2748, 2005
- HOLICK, M.F. Vitamin d status: measurement interpretation and clinical application. **Annals of Epidemiology**. v.19, n.2, p.73-78, 2009.
- HOLLIS, B.W. Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency: implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D. **American Society for Nutricional Sciences**. n.135, p.317-322, 2005.
- HOSSEIN-NEZHAD, A.; HOLICK, M.F. Vitamin D for health: A global perspective. **Mayo Clinic Proceedings**. v.88, n.7, p.720-755, 2014.
- MAIA, M.; MAEDA, S.S.; MARÇON, C. Correlação entre fotoproteção e concentração de 25hidroxi-vitamina D e paratormônio. **Anais Brasileiros de Dermatologia**. v.82, n.3, p.233-7, 2007.
- LIANG, C.T.; BARNES, J.; SACKTOR, B.; TAKAMOTO, S. Alterations of duodenal vitamin D calcium-binding contents and calcium uptake in brush border membrane vesicles in aged Wistar rats: role of 1,25(OH)2D3. **Endocrinology**, v.128, p. 1780-1784, 1991.
- MOURÃO, D.M.; SALES, N.S.; COELHO, S.B.; PINHEIRO-SANTANA, H.M. Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Revista de Nutrição**. v.18, n.4, p.529-539, 2005.
- MUNDY, G.R. Inflammatory mediators and the destruction of bone. **Journal of periodontal research**. v.26, n.3 pt.2, p.213-217, 1991.
- NAJA, R.P.; DARDENNE, O.; ARABIAN, A.; ST ARNAUD, R. Chondrocyte-specific modulation of Cyp27b1 expression supports a role for local synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in growth plate development. **Endocrinology**. v.150, n.9, p.4024-4032, 2009.
- NRC - National Research Council. 2012. **Nutrient requirements of swine**. 11th ed. The National Academies Press, Washington, DC.
- OKADA, K.A.; CARRILHO, B,J.; TILLEY, M. Solanum malacoxylon sendtner: a toxic plant in Argentina. **Economic Botany**. v.31, n.2, p.225-236, 1977.
- PITTAS, A.; LAU, J.; HU, F.B.; DAWSON-HUGHES, B. The role of vitamin d and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. **The Journal of clinical endocrinology and metabolism**. v.92, n.6, p.2017-2019, 2007.
- PREMAOR, M.O.; FURLANETTO, T.W. Hipovitaminose D em adultos: entendendo melhor a apresentação de uma velha doença. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. v.50, n.1, 2006.
- ROCHEL, N.; WURTZ, J.M.; MITSCHLER, A.; KLAHOLZ, B.; MORAS, D. The Crystal structure of the nuclear receptor for vitamin D bound to its natural ligand. **Molecular Cell**. v.5, n.1, p.173-179, 2000.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; ABREU, M. L. T.; RODRIGUES, P. B.;

OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S. L. T. AND BRITO, C. O. 2017. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4.ed. Departamento de Zootecnia/UFV, Viçosa, MG.

SANTANA, A.L.A.; CARVALHO, P.L.O.; CRISTOFORI, E.C.; CHAMBO, P.C.S.; BARBIZAN, M.; NUNES, R.V.; GREGORY, C.R.; GENOVA, J.L. Supplementation of pig diets in the growth and termination phases with different calcium sources. **Tropical animal health and production**, v. 50, N.3, p. 477-484, 2017.

SILVA, B.C.C.; CAMARGO, B.M.; FUJII, J.B.; DIAS, E.P.; SOARES, M.M.S. Prevalência de deficiência e insuficiência de vitamina D e sua correlação com PTH, marcadores de remodelação óssea e densidade mineral óssea, em pacientes ambulatoriais. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. v.52, n.3, 2008.

SODEK, J.; McKEE, M.D. Molecular and cellular biology of alveolar bone. **Periodontology** 2000. v.24, p.99-126, 2000.

SPEECKAERT, M.; HUANG, G.; DELANHE, J.R.; TAES, Y.E.C. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. **Clinica Chimica Acta**. v.372, n.1, p.33-42, 2006.

SUTTLE, N.F. **Mineral Nutrition of Livestock**. 4.ed. Cambridge: CAB International, 2010.

TAKAYANAGI, H. Inflammatory bone destruction and osteoimmunology. **Journal of periodontal research**. v.40, n.4, p.287-293, 2005.

TOUSIGNANT S.J.P.; HENRY S.C.; ROVIRA A.; MORRISON, R.B. Effect of oral vitamin D<sub>3</sub> supplementation on growth and serum 25-hydroxy vitamin D levels of pigs up to 7 weeks of age. **Journal of Swine Health and Production**. v.21, n.2, p.94–98., 2013.

TRAUTENMULLER, H.; GENOVA, J.L.; FARIA, A.B.B.; MARTINS, J.S.; VIANA, S.C.M.; CASTILHA, L.D.; GONÇALVES JUNIOR, A.C.G.; BARALDI-ARTONI, S.M.; CARVALHO, P.L.O. Bone traits and gastrointestinal tract parameters of piglets fed cholecalciferol and 1,25-dihydroxycholecalciferol glycoside. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.50, 2021.

VAN GREVENHOF, E.M.; HEUVEN, H.C.M.; VAN WEEREN, P.R.; BIJMA, P. The relationship between growth and osteochondrosis in specific joints in pigs. **Livestock Science**, v. 143, n. 1, p.85-90, 2012.

WOHRLE, S.; BONNY, O.; BELUCH, N.; GAULIS, S.; STAMM, C.; SCHEIBLER, M.; MULLER, M.; KINZEL, B.; THUERY, A.; BRUEGGEN, J.; HYNES, N.E.; SELLERS, W.R.; HOFMANN, F.; GRAUS-PORTA, D. FGF receptors control vitamin D and phosphate homeostasis by mediating renal FGF-23 signaling and regulating FGF-23 expression in bone. **Journal of Bone and Mineral Research**. v.26, n.10, p.2486-2497, 2011.

WORKER, N.A.; CARRILLO, B.J. Enteque seco, calcification and wasting in grazing animals in the Argentine. **Nature**. v.215, p.72–74, 1967.

YANG, P.; MA, Y. Recent advances of vitamin D in immune, reproduction, performance for pig: a review. **Animal Health Research Reviews**. v.22, n.1, p.85-95, 2021.

YTREHUS, B.; CARLSON, C.S.; EKMAN, S. Etiology and pathogenesis of osteochondrosis. **Veterinary Pathology**, v.44, p.429-448, 2007.

ZIMMERMAN, D.R.; GILL, S.; PAWLAK, E.; DALLORSO, M.E.; HORST, R.L. Isolation and identification of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-glycosides from *Solanum glaucophyllum*, in: **12th workshop on Vitamin D**, Maastricht, p.94, 2003.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Suinocultura da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), localizada no município de Marechal Cândido Rondon, PR, Brasil. O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Unioeste sob o certificado de número 01/2022-CEUAP.

#### 3.1. Experimento I – Coeficientes de digestibilidade aparente e nutrientes digestíveis

##### 3.1.1. Animais, delineamento experimental, alojamento e dietas.

O ensaio de digestibilidade envolveu 30 leitões machos inteiros, de linhagem comercial (Landrace × Large White, pesando  $23,87 \pm 3,32$  kg), que foram designados em um delineamento de blocos casualizados completos com 2 repetições em cada uma das 3 rodadas (blocos) ao longo do tempo, constituído por 5 tratamentos de 6 repetições de gaiolas, com um animal por gaiola metabólica como a unidade experimental.

Os animais foram pesados e alojados individualmente em gaiolas de metabolismo de metal ajustáveis (1 m × 0,5 m, 0,5 m<sup>2</sup>), com piso de estrado plástico, funil para a coleta de urina e uma caixa de metal na parte posterior para a coleta de fezes (Trautenmuller et al., 2022). As gaiolas eram equipadas de comedouro e bebedouro frontal, semelhantes às descritas por Pekas (1968), mantidas em um galpão de alvenaria, com piso de concreto e cortinas laterais para ventilação natural. O período experimental durou 36 dias divididos em 3 rodadas, cada uma com 12 dias de duração (sete dias para adaptação às gaiolas e regularização do consumo de ração para calcular o consumo metabólico e cinco dias para a coleta total de fezes e urina).

A temperatura ambiente do ar foi registrada usando um datalogger (Vketech, modelo temperature instruments), instalado no centro da instalação. A temperatura mínima, média, e máxima registrada foram de 15,8°C, 26,2°C, e 39,5°C, respectivamente. O controle de temperatura e ventilação no interior da instalação foi realizado com auxílio de ventiladores, umidificadores e cortinas laterais.

As dietas experimentais foram formuladas à base de milho e farelo de soja, iso-proteicas e iso-calóricas, suplementadas com aminoácidos industriais para atenderem as exigências nutricionais dos animais para a fase inicial (Rostagno et al., 2017), e fornecidas na forma

farelada, a inclusão do colecalciferol e da 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo foi feita *on top*.

Os tratamentos dietéticos testados (Tabela 1) foram -D<sub>3</sub>= sem fonte suplementar de vitamina D (controle negativo), +D<sub>3</sub>= 100% da exigência de vitamina D suplementada pelo colecalciferol (1969 UI na fase inicial) (controle positivo), D<sub>3</sub>+0,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol + 0,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo (20 UI), D<sub>3</sub>+1,0= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol + 1,0 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo (40 UI) e D<sub>3</sub>+1,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol + 1,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo (60 UI). A dosagem de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo (Panbonis<sup>®</sup>) foi baseada nas recomendações do fabricante (Herbonia Animal Health GnbH, Rheinstrasse, August, Suíça).

**Tabela 1.** Composição da dieta referência (controle negativo) fornecida aos leitões no ensaio de digestibilidade (como base alimentada, g kg<sup>-1</sup> de dieta)

Ingredientes	Composição calculada
Milho moido 7,86% de PB	59,14
Farelo de soja 45,5% de PB	33,67
Óleo de soja degomado	3,08
Fosfato bicálcico	1,89
Calcário calcítico	0,85
L-lisina HCl 78%	0,426
DL-metionina 99,5%	0,168
L- treonina 96,8%	0,178
L-triptofano 99%	0,022
Sal comum	0,48
Premix mineral <sup>1</sup>	0,05
Premix vitamínico <sup>2</sup>	0,03
Halquinol	0,01
Caulim <sup>3</sup>	0,0004
<b>Atendimento das exigências</b>	
Proteína bruta (%)	20,55
Energia metabolizável (Mcal/kg)	3,35
Lisina digestível (%)	1,28
Metionina + cisteína digestível (%)	0,73
Treonina digestível (%)	0,83
Triptofano digestível (%)	0,24
Cálcio total (%)	0,91
Fósforo disponível (%)	0,45

Sódio total (%)

0,21

<sup>1</sup>Conteúdo por kg de dieta: sulfato de manganês, 120.0 PPM; óxido de zinco, 160.0 PPM; sulfato de ferro, 120.1 PPM; sulfato de cobre, 20.0 PPM; iodo, 1.9 PPM; selênio, 0,06 PPM; <sup>2</sup>Conteúdo por kg de dieta: vitamina A (min.), 8.0 UI; vitamina E (min.), 20.0 UI; vitamina K<sub>3</sub> (min.), 3.2 mg; vitamina B<sub>1</sub> (min.), 1.6 mg; vitamina B<sub>2</sub> (min.), 4.0 mg; vitamina B<sub>6</sub> (min.), 1.6 mg; vitamina B<sub>12</sub> (min.), 16.0 mcg; niacina (min.), 32 mg; ácido pantotênico (min.), 16 mg; ácido fólico (min.), 480 mg; biotina (min.), 160 mg; selênio (min.), 300 ug; BHT (min.), 250 mg. <sup>3</sup>Caulim: acrescentado colecalciferol nos tratamentos que não eram isentos de vitamina D.

As dietas foram fornecidas duas vezes ao dia (08h00 e 16h00), e umidificadas com água (20% da quantidade total fornecida) para melhorar a palatabilidade do alimento e minimizar perdas por propriedades pulverulentas. O consumo de dieta total e as sobras foram registrados diariamente. No período de coleta total, a quantidade de dieta fornecida para cada animal foi determinada em função do consumo na fase de adaptação, ajustado pelo peso metabólico ( $PC^{0,75}$ ) de acordo com Sakomura e Rostagno et al. (2016). Após cada arraçoamento, a água foi fornecida no comedouro frontal na proporção de 3 mL g<sup>-1</sup> de dieta consumida calculada para cada animal (Sakomura e Rostagno et al., 2016).

O óxido de ferro foi utilizado na ração na proporção de 1% como marcador no início e no final do período de coleta.

### 3.1.2. Amostragem no período de coleta total

As fezes excretadas por cada animal foram coletadas diariamente, pesadas e acondicionadas em sacos plásticos identificados anteriormente e armazenados em freezer (-20°C) até o final do período experimental. Após, as fezes foram descongeladas, homogeneizadas, retirada uma alíquota em duplicata (110 g), e pesadas em balança analítica (Bel engineering, modelo M4102, Monza, Itália). Posteriormente, foi feita a pré-secagem em estufa de circulação forçada de ar (Tecnal, SF-325 NM; Piracicaba, SP, Brasil) a 55°C por um período de 72 h (Silva e Queiroz, 2002).

Após a pré-secagem, as amostras de fezes e dietas foram moídas em moinho tipo micropulverizador (R-TE-350; Tecnal Equipamento Científico, Piracicaba, SP, Brasil) e armazenadas em potes de polietileno para análises de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), cálcio (Ca), fósforo (P) e cálculo da matéria orgânica (MO), seguindo os procedimentos descritos por Silva e Queiroz (2009).

Os teores de Ca e P nas dietas e fezes foram usados para calcular o consumo de Ca e P total, bem como a excreção de Ca e P. Os coeficientes de digestibilidade aparente da MS, PB, MO, Ca e P foram calculados de acordo com Sakomura e Rostagno (2016).

### 3.2. Experimento II – Desempenho zootécnico

#### 3.2.1. Animais, delineamento, alojamento e tratamentos dietéticos

Um total de 135 leitões machos inteiros, híbridos de linhagem comercial (Landrace x Large White, desmamados com 25 dias de idade e pesando  $8,02 \pm 0,53$  kg), foram designados em um delineamento experimental de blocos casualizados completos com 3 repetições em cada uma das 3 rodadas (blocos) ao longo do tempo, constituído por 5 tratamentos de 9 repetições de baias como a unidade experimental. Cada unidade experimental composta por três animais.

Ao chegarem às instalações, os leitões foram pesados e identificados individualmente com brincos plásticos numerados, alojados em instalação de alvenaria, constituída de baias suspensas ( $1,54 \text{ m}^2$ ) e piso plástico de polietileno vazado, organizadas em duas fileiras separadas por um corredor central, e equipadas com comedouro frontal tipo calha e bebedouros posteriores tipo chupeta. O galpão de alojamento dos animais foi preparado para que não houvesse iluminação solar, e todas as janelas foram fechadas com lonas escuras para impedir a entrada da luz solar. As baias, corredor e canaletas foram higienizados com água corrente diariamente no período da tarde.

Cada rodada experimental durou 35 dias realizada apenas em uma série, os animais ficaram três dias em período de adaptação e após, foi iniciado o período experimental.

A temperatura do ambiente (TA) e umidade relativa do ar (UR) foram registradas utilizando-se um datalogger (modelo UT330B digital USB, marca UNI-T, Pequim, China), instalado no interior da instalação na parte central próximo a baia, e próximo das lâmpadas de aquecimento. A TA e UR registradas foram: mínima  $11,5^\circ\text{C}$  e 28%, média  $24,4^\circ\text{C}$  e 58%, e máxima  $34,4^\circ\text{C}$  e 87%. O controle de ventilação do ar foi realizado com o auxílio de ventiladores, exaustores e janelas de vidro tipo basculante, e o aquecimento das baias foi realizado com lâmpadas incandescentes infravermelhas (Lâmpada de secagem 250W 220V – Marca OUROLUX, São Paulo, Brasil) individuais, dispostas na parte superior de cada baia.

No décimo quarto dia de alojamento, os leitões receberam a segunda dose das vacinas imunizantes contra agentes patogênicos Circovírus suíno tipo 2, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Streptococcus suis* sorotipo 2 e *Haemophilus parasuis*.

As dietas experimentais foram formuladas à base de milho e farelo de soja, suplementadas com aminoácidos industriais e fornecidas na forma farelada, seguindo as recomendações propostas por Rostagno et al. (2017), para atenderem todas as exigências

nutricionais, baseadas em três fases: (1) pré-inicial I (dia 0 a 7), (2) pré-inicial II (dia 7 a 21) e (3) inicial (dia 21 a 35). Os animais receberam água e ração *ad libitum* durante todo o período experimental.

Os tratamentos testados foram (Tabela 2): -D<sub>3</sub>= sem fonte suplementar de vitamina D (controle negativo), +D<sub>3</sub>= 100% da exigência de vitamina D suplementada pelo colecalciferol (2707 UI na fase pré- inicial I, 2405 UI na fase pré-inicial II, 1969 UI na fase inicial) (controle positivo), D<sub>3</sub>+0,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol + 0,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo, D<sub>3</sub>+1,0= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol + 1,0 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo e D<sub>3</sub>+1,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol + 1,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo.

**Tabela 2.** Composição das dietas experimentais referência (controle negativo) fornecidas para os leitões de creche (como base alimentada, g kg<sup>-1</sup> de dieta).

Ingredientes	Fases de crescimento		
	Pré-inicial 1	Pré-Inicial 2	Inicial
Milho moído, 7,86% de PB	41,04	51,13	59,14
Farelo de soja, 45,5% de PB	21,28	19,31	33,67
Soro de leite em pó desen.	14,02	8,92	-
Soja micronizada, 38% de PB	10,00	8,00	-
Açúcar	5,00	4,00	-
Farinha de peixe, 53% de PB	3,00	3,00	-
Óleo vegetal degomado	1,78	1,62	3,08
Fosfato bicálcico	1,48	1,43	1,89
Calcário calcítico	0,84	0,75	0,85
L-lisina HCL 78%	0,499	0,725	0,426
DL-metionina 99,5%	0,355	0,307	0,168
L-treonina 96,8%	0,423	0,392	0,178
L-triptofano 99%	0,096	0,088	0,022
Sal comum	0,11	0,23	0,48
Premix mineral <sup>1</sup>	0,05	0,05	0,05
Premix vitamínico <sup>2</sup>	0,03	0,03	0,03
Halquinol 60%	0,01	0,01	0,01
Caulim <sup>3</sup>	0,0007	0,0006	0,0004
<b>Atendimento das exigências</b>			
Proteína bruta (%)	21,42	19,87	20,55
Energia metabolizável (Mcal/kg)	3,40	3,38	3,35
Lactose	11,00	7,00	-
Lisina digestível (%)	1,45	1,35	1,28
Metionina + cisteína digestível (%)	0,81	0,75	0,73
Treonina digestível (%)	0,97	0,90	0,83

Triptofano digestível (%)	0,28	0,26	0,24
Cálcio total (%)	1,07	0,97	0,91
Fósforo disponível (%)	0,53	0,48	0,45
Sódio total (%)	0,22	0,22	0,21

<sup>1</sup>Conteúdo por kg de dieta: sulfato de manganês, 120 PPM; óxido de zinco, 160 PPM; sulfato de ferro, 120 PPM; sulfato de cobre, 20 PPM; iodo, 1.999 PPM; selênio, 0,064 PPM; <sup>2</sup>Conteúdo por kg de dieta: vitamina A (min.), 8.000.000 UI; vitamina E (min.), 20.000 UI; vitamina K<sub>3</sub> (min.), 3.200 mg; vitamina B<sub>1</sub> (min.), 1.600 mg; vitamina B<sub>2</sub> (min.), 4.000 mg; vitamina B<sub>6</sub> (min.), 1.600 mg; vitamina B<sub>12</sub> (min.), 16.000 mcg; niacina (min.), 32 g; ácido pantotênico (min.), 16 g; ácido fólico (min.), 480 mg; biotina (min.), 160 mg; selênio (min.), 300 mg; BHT (min.), 250 mg. <sup>3</sup>Caulim: acrescentado colecalciferol nos tratamentos que não eram isentos de vitamina D.

### 3.2.2. Desempenho zootécnico e ocorrência de diarreia

As sobras de dieta foram recolhidas diariamente, pesadas e corrigidas para o fornecimento total. O peso corporal individual dos animais foi monitorado com balança digital (Modelo UL-50, Marca DIGI-TRON, Curitiba, Brasil) ao início e término de cada fase. Após, foram calculados os índices de desempenho zootécnico: consumo de ração diário médio (CRDM) (kg/dia), ganho de peso diário (GPD) (kg/dia), peso corporal final (PCF, kg) e taxa de conversão alimentar (CA, kg/kg).

A ocorrência de diarreia foi avaliada diariamente (09h00) durante todo o experimento pelo mesmo observador, atribuindo escores de 0 a 3, de acordo com a consistência fecal (Huang et al., 2004). Os escores foram classificados dentro da baia e no piso inferior à baia, como: 0 para fezes sólidas, 1 para fezes pastosas, 2 para fezes líquidas/pastosas, e 3 para fezes líquidas. Ao fim do experimento, os dados de escore foram transformados dentro de valores binários, representados pelos escores 0 e 1 como ausência de diarreia (0), e escores 2 e 3 como ocorrência de diarreia (1).

### 3.2.3. Perfil bioquímico e imunológico sanguíneos

Ao final das fases pré-inicial II (dia 21) e inicial (dia 35) todos os animais jejuaram por 8h. Após, 18 leitões de cada tratamento foram selecionados baseado no peso corporal dentro de cada bloco na respectiva fase para a realização da colheita sanguínea. Então, 20 mL de sangue via punção da veia jugular foram colhidos, utilizando seringas de 20 mL e agulhas de calibre 0,70 × 30 mm. O sangue coletado foi transferido para tubos de vidro sem anticoagulante para obtenção do soro e outro contendo heparina para obtenção do plasma, previamente identificados ficando em repouso por aproximadamente 30 minutos em ambiente sem restrição de luminosidade. Após um repouso de aproximadamente 30 minutos, o sangue

foi centrifugado (centrífuga analógica Centrilab, 80-2B) a 3.000 rpm por 10 min em temperatura ambiente. Após a centrifugação, o sobrenadante (3 mL) foi transferido para tubos de polietileno do tipo eppendorf em duplicata para o soro ou plasma, devidamente identificados e armazenados em freezer a -20°C.

As análises de cálcio (método colorimétrico-cresolftaleína, Cat. 448), fósforo (método colorimétrico-fosfomolibdato, Cat. 342), magnésio (método colorimétrico-magon sulfonado, Cat. 115), ureia (método enzimático-colorimétrico, Cat. 427) e atividade da fosfatase alcalina (método cinético-colorimétrico, Cat. 440) foram determinadas por espectrofotometria (Bel SPECTRO S05, marca Bel Engineering, Monza, Itália), usando kits comerciais (Gold Analisa Diagnóstica® - Belo Horizonte, MG, Brasil) no laboratório de análises sanguíneas da Unioeste.

As análises de hemograma completo foram realizadas para determinar os valores de hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume globular médio (VGM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), proteínas plasmáticas (PP), plaquetas, leucócitos, segmentados, monócitos e linfócitos. As análises foram realizadas utilizando o equipamento Analisador Hematológico Hemacoutner SL, e em todas as amostras é feito diferencial em lâmina, utilizando coloração em panótico. Para a leitura de proteína plasmática é utilizada a metodologia de refratômetro. A análise de vitamina D na fração sérica foi realizada em laboratório de análises clínicas pelo método de cromatografia líquida de alta pressão usando kit comercial (Abbott, São Paulo, SP, Brasil).

#### 3.2.4. Peso relativo e composição físico-química dos órgãos e ossos, e pH do conteúdo do trato digestório

Ao final do período experimental (dia 35) foram selecionados seis leitões por tratamento, baseado no peso corporal final médio de cada bloco, os animais selecionados não eram os mesmos que os doadores de sangue para a coleta das patas, órgãos, e do conteúdo do trato digestório. O abate dos animais foi realizado em frigorífico comercial. Os animais foram jejuados por 8 horas e atordoados eletricamente (240 volts por 3 s), seguidos de exsanguinação.

Após o abate, o pH do conteúdo estomacal e intestinal (jejuno, íleo, ceco e cólon) dos leitões foi mensurado usando um peagâmetro digital (TEC-2 mp, marca Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil). As carcaças foram evisceradas para a coleta do estômago, intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) e grosso (ceco, cólon e reto) vazios, fígado com vesícula biliar,

coração, rins e baço, que foram pesados em balança digital (MX-111, marca Maxon, China). O comprimento dos intestinos dissecados foi mensurado com fita métrica comum. As medidas obtidas foram utilizadas para calcular o peso relativo dos órgãos em função do peso corporal dos animais ao abate. O coração, fígado e rins inteiros foram acondicionados em sacos plásticos identificados e armazenados em freezer (-20°C) para posteriores análises.

Posteriormente, os órgãos coletados (coração, fígado e rins) foram descongelados, cortados em pequenos pedaços (3 cm) para realização da pré-secagem a 65°C por 72 h. Após, foram moídos em moinho tipo micropulverizador (R-TE-350; Tecnal Equipamento Científico, Piracicaba, SP, Brasil). Então, procedeu a secagem definitiva para obtenção dos valores de MS e MO e para a obtenção da MM foi adicionado 0,5 mL de peróxido de hidrogênio nas amostras para evitar que o conteúdo transbordasse do cadinho devido ao alto teor de gordura. Posteriormente à obtenção das cinzas, foi elaborada a solução mineral via seca, a amostra incinerada foi dissolvida em 5 mL de HCL (1+1), em seguida procedeu a digestão ácida, até a completa evaporação, com auxílio de um bastão de vidro seguindo a metodologia de AOAC (2000), para posteriores análises de Ca e P, que foram realizadas em laboratório comercial.

### 3.2.5. Características ósseas

As patas coletadas foram desossadas com auxílio de pinças e bisturis para expor os metacarpos e metatarsos. O segundo metacarpo direito e o fêmur de cada animal foram enviados para análise de densidade óssea na Unesp (Jaboticabal, SP, Brasil) utilizando o equipamento Hologic Discovery Wi<sup>®</sup> software modo small animal, e resistência óssea realizado em máquina universal de ensaios mecânicos (Marca EMIC, DL 10.000, com célula carga-EMIC de 200 kgf) (TRAUTENMULLER et al., 2021). Os dados coletados por computador diretamente acoplado à máquina foram expressos em Newton.

O segundo metatarso e direito foi utilizado para confecção de lâminas histológicas, primeiramente preparado em solução de formaldeído tamponada a 10% (100 mL de formaldeído 37,5%, 900 mL água destilada, 4 g de fosfato de sódio monobásico e 6,5 g de fosfato de sódio dibásico) por 24 h, seguido de 72 h em imersão em álcool 70% e troca da solução a cada 24 h, a descalcificação foi procedida com solução de ácido fórmico (50%) e citrato de sódio (20%) durante 20 dias (TRAUTENMULLER et al., 2021). Ao final do processo foi possível perfurar facilmente o osso com uma agulha (25 × 7 mm). Posteriormente, os metatarsos foram lavados em água destilada, acondicionados em potes

plásticos e emergidos em solução de formaldeído tamponada a 10%, e encaminhados ao laboratório para avaliação da placa de crescimento óssea.

O terceiro metatarso direito foi utilizado para as medidas morfológicas externas, em que os ossos foram medidos com o auxílio de um paquímetro digital (Mtx, Digital, Guarulhos, SP, Brasil). As medidas de altura da epífise, largura da epífise, altura da diáfise, largura da diáfise, comprimento total e peso úmido (g) foram realizadas. O índice de Seedor foi calculado dividindo-se o peso do osso úmido em miligramas pelo seu comprimento em milímetros (SEEDOR et al., 1991).

O segundo metacarpo esquerdo foi submetido a um processo de fervura por 1 h em panela elétrica para facilitar a remoção do restante de tecido mole com auxílio de pinça e bisturi. Então, foi seco em estufa (Tecnal, SF-325 NM; Piracicaba, SP, Brasil) a 65°C por 72 h. Posteriormente, os ossos foram embebidos com éter de petróleo por 72 h para extração da gordura, trocando o éter a cada 24 h. Após a remoção da gordura, os metacarpos foram secos em estufa (Tecnal, TE-393-180L Piracicaba, SP, Brasil) a 105°C por 2 h (LEE et al., 2021). Posteriormente foram realizadas as análises de MS em estufa de secagem definitiva (Tecnal, TE-393-180L Piracicaba, SP, Brasil) a 105°C e MM utilizando um forno tipo mufla (7Lab, Bio FM 6,7L, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) a 600°C durante 6 h para elaboração da solução mineral via seca, a amostra incinerada foi dissolvida em 5 mL de HCL (1+1), em seguida procedeu a digestão ácida, até a completa evaporação, com auxílio de um bastão de vidro seguindo a metodologia de AOAC (2000), para posteriores análises de Ca, P e Mg, que foram realizadas em laboratório comercial.

### 3.2.6. Morfometria intestinal

Após a extração dos órgãos, fragmentos de 3 cm de comprimento do jejuno (extraído a 150 cm da junção íleo-cecal no sentido cranial) (GUO et al., 2001) foram coletados, lavados com água destilada e solução fisiológica (cloreto de sódio 0,9%), acondicionados em potes plásticos estéreis de 50 mL contendo solução de formaldeído tamponada a 10% como mencionada acima. Posteriormente, as amostras foram enviadas para o laboratório de histopatologia, em que foram parafinados para a confecção de lâminas. Os blocos de parafina contendo as amostras receberam cortes semiseriados para serem corados com hematoxilina e eosina, conforme o método descrito por Prophet et al. (1994).

A morfometria intestinal foi avaliada através de dez medidas de altura de vilosidades (AV) e as respectivas profundidades de cripta (PC) por amostra, para obtenção do valor médio

de cada animal e cálculo da relação AV:PC, seguindo a metodologia descrita por Kraiesi et al. (2017). As imagens foram obtidas em uma resolução de  $1024 \times 768$  pixels, por meio de um microscópio trinocular (modelo CX31RTSF, marca Olympus, Tóquio, Japão). A morfometria intestinal foi realizada através de um sistema computacional *Image-Pro Plus*.

### 3.2.7. Procedimentos estatísticos

Antes de avaliar o resultado da análise de covariância (ANCOVA) ou variância (ANOVA) foi verificada a análise dos resíduos padronizados de Student. Valores maiores ou iguais a três desvios-padrão foram considerados como outliers. A normalidade dos erros experimentais e a homogeneidade de variâncias dos erros entre os tratamentos foram avaliadas previamente utilizando-se os testes de Shapiro-Wilk e de Levene, respectivamente. A baia ou a gaiola metabólica foram consideradas a unidade experimental, exceto para os dados de abate.

O modelo estatístico utilizado para as variáveis de desempenho zootécnico e digestibilidade aparente do trato total de nutrientes foi:  $Y_{ijk} = \mu + T_i + b_j + \beta (X_{ijk} - \bar{X}_{...}) + \varepsilon_{ijk}$ , em que  $Y_{ijk}$  = observação média da variável dependente em cada parcela, medida na  $i$ -ésima classe de tratamento, no  $j$ -ésimo bloco e na  $k$ -ésima repetição;  $\mu$  = efeito da média geral;  $T_i$  = efeito fixo das classes de tratamento, para  $i = (1, 2, 3, 4 \text{ e } 5)$ ;  $b_j$  = efeito aleatório de bloco (rodada), para  $j = (1, 2, \text{ e } 3)$ ;  $\beta$  = coeficiente de regressão de  $Y$  sobre  $X$ ;  $X_{ijk}$  = observação média da covariável peso corporal inicial em cada parcela, medida na  $i$ -ésima classe de tratamento, no  $j$ -ésimo bloco e na  $k$ -ésima repetição;  $\bar{X}_{...}$  = média geral para a covariável  $X$ ;  $\varepsilon_{ijk}$  = erro aleatório da parcela associado ao nível  $i$ , ao bloco  $j$  e a repetição  $k$ . Todos os outros dados foram analisados de acordo com o modelo descrito acima, sem incluir o efeito de covariável.

Os efeitos de tratamentos sobre as variáveis dependentes foram verificados por meio da ANCOVA ou ANOVA. Comparações múltiplas entre as médias de tratamentos foram analisadas de acordo com o teste *post hoc* de Duncan ao nível de 5% de probabilidade. Os resultados foram apresentados como médias com erro padrão da média agrupado.

Um modelo linear generalizado foi ajustado para ocorrência de diarreia (OD), usando uma distribuição binomial e função de ligação logit. Os resultados de OD foram apresentados como proporções observadas dos dias com OD (frequência relativa em %). O tratamento e o tempo foram considerados como efeitos fixos e o bloco como um fator aleatório. O efeito de tratamento foi verificado através da análise do tipo III. As diferenças significativas foram

estabelecidas em  $P < 0,05$ , e as estimativas para OD foram comparadas usando um teste da diferença entre as *lsmeans*, através da estatística  $\chi^2$ . Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se dos procedimentos do SAS University Edition (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA).

## 4 RESULTADOS

### a. Coeficientes de digestibilidade aparente, nutrientes digestíveis e balanço de nutrientes

Os resultados dos coeficientes de digestibilidade aparente, nutrientes digestíveis e balanço de nutrientes (Tabela 3), mostraram que as variáveis estudadas não apresentaram diferenças entre os tratamentos dietéticos ( $P>0,05$ ).

**Tabela 3.** Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), nutrientes digestíveis e balanço de nutrientes de suínos alimentados com dietas suplementadas com  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glicosídeo (Exp. D)<sup>1</sup>.

Variáveis <sup>2</sup>	Tratamentos dietéticos <sup>3</sup>					EPM <sup>4</sup>	P-value
	-D <sub>3</sub>	+D <sub>3</sub>	D <sub>3</sub> +0,5	D <sub>3</sub> +1,0	D <sub>3</sub> +1,5		
CDMS, %	90,49	90,50	91,10	91,62	91,46	0,21	0,157
CDMO, %	92,60	92,54	93,07	93,41	93,31	0,17	0,243
CDPB, %	89,55	89,23	90,26	91,02	91,04	0,38	0,146
CDCa, %	43,82	48,09	56,54	49,74	58,04	7,27	0,077
CDP, %	69,02	63,85	70,65	67,88	69,12	3,20	0,343
Nutrientes digestíveis e balanço de nutrientes							
MSD, %	80,15	80,19	81,07	81,84	81,15	0,30	0,079
MOD, %	86,73	86,38	87,10	87,32	87,02	0,16	0,439
Ca ingerido, g/d	5,72	6,09	6,06	5,65	6,03	0,29	0,745
Ca fecal, g/d	2,90	2,90	2,62	2,51	2,47	0,15	0,467
P ingerido, g/d	4,58	4,01	4,77	4,28	4,44	0,38	0,115
P fecal, g/d	1,52	1,59	1,49	1,59	1,38	0,16	0,670
PB ingerido, g/d	170,91	170,11	177,59	168,90	174,87	6,11	0,818
PB fecal, g/d	20,16	20,46	19,66	16,97	17,39	0,94	0,349

<sup>1</sup>6 repetições de gaiolas metabólicas por tratamento.

<sup>2</sup>CDMS: coeficiente de digestibilidade da matéria seca; CDMO: coeficiente de digestibilidade da matéria orgânica; CDPB: coeficiente de digestibilidade da proteína bruta; CDCa: coeficiente de digestibilidade do cálcio; CDP: coeficiente de digestibilidade do fósforo; MSD: matéria seca digestível; MOD: matéria orgânica digestível.

<sup>3</sup>-D<sub>3</sub>= sem fonte suplementar de vitamina D (controle negativo), +D<sub>3</sub>= 100% da exigência de vitamina D suplementada pelo colecalciferol (2707 UI na fase pré- inicial I, 2405 UI na fase pré-inicial II, 1969 UI na fase inicial) sem suplementação de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  glicosídeos (controle positivo), D<sub>3</sub>+0,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 0,5 µg de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  glicosídeo, D<sub>3</sub>+1,0= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,0 µg de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  glicosídeo e D<sub>3</sub>+1,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,5 µg de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  glicosídeo.

<sup>4</sup>Erro padrão da média agrupado.

b. Desempenho zootécnico e ocorrência de diarreia

Na fase pré-inicial II, houve uma redução ( $P < 0,005$ ) na ocorrência de diarreia nos leitões que consumiram os tratamentos  $D_3+1,0$  em comparação aos leitões alimentados com os tratamentos dietéticos  $-D_3$ ,  $D_3+0,5$ , e  $D_3+1,5$  (Tabela 5). No período total, os animais alimentados com  $D_3+1,0$  apresentaram ( $P = 0,009$ ) menor ocorrência de diarreia em comparação àqueles que receberam o tratamento dietético  $D_3+0,5$ .

Na fase inicial, os leitões que consumiram os tratamentos dietéticos  $-D_3$  e  $D_3+1,5$  apresentaram ( $P = 0,031$ ) menor CRDM em comparação com aqueles dos tratamentos  $+D_3$ ,  $D_3+0,5$  e  $D_3+1,0$  (Tabela 5). Os leitões que receberam o tratamento  $D_3+1,0$  apresentaram ( $P < 0,05$ ) maior GPD e PCF comparados aos tratamentos  $-D_3$  e  $D_3+1,5$ . As demais fases não apresentaram efeitos para as variáveis estudadas.

**Tabela 4.** Desempenho zootécnico e ocorrência de diarreia em suínos na fase de creche alimentados com dietas suplementadas com 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-glicosídeo (Exp. II)<sup>1</sup>

Variáveis <sup>2</sup>	Tratamentos dietéticos <sup>3</sup>					EPM <sup>4</sup>	P-value
	-D <sub>3</sub>	+D <sub>3</sub>	D <sub>3</sub> +0,5	D <sub>3</sub> +1,0	D <sub>3</sub> +1,5		
Pré I (dia 0 a 7)							
PCI, kg	7,98	7,92	8,17	7,96	7,99	0,08	-
CRDM, kg/dia	0,28	0,29	0,27	0,28	0,28	0,01	0,656
GPD, kg/dia	0,15	0,15	0,15	0,16	0,15	0,01	0,982
CA kg:kg	1,98	2,01	1,92	1,96	1,95	0,06	0,983
PCF, kg/	9,11	8,96	9,19	9,09	9,06	0,10	0,967
OD, %	58,73	58,73	53,97	47,62	55,56	0,06	0,707
Pré II (dia 7 a 21)							
CRDM, kg/dia	0,47	0,49	0,47	0,50	0,46	0,01	0,444
GPD, kg/dia	0,33	0,36	0,35	0,38	0,33	0,01	0,130
CA, kg:kg	1,43	1,38	1,37	1,33	1,37	0,01	0,303
PCF, kg	13,65	14,1	14,06	14,44	13,51	0,18	0,134
OD, %	19,84 <sup>AB</sup>	23,02 <sup>ABC</sup>	34,13 <sup>AB</sup>	16,67 <sup>C</sup>	35,71 <sup>A</sup>	0,04	0,005
Inicial (dia 21 a 35)							
CRDM, kg/dia	0,76 <sup>b</sup>	0,85 <sup>a</sup>	0,87 <sup>a</sup>	0,86 <sup>a</sup>	0,76 <sup>b</sup>	0,01	0,031
GPD, kg/dia	0,52 <sup>bc</sup>	0,57 <sup>abc</sup>	0,59 <sup>ab</sup>	0,60 <sup>a</sup>	0,51 <sup>c</sup>	0,01	0,035
CA, kg:kg	1,47	1,49	1,48	1,44	1,50	0,01	0,555
PCF, kg	20,82 <sup>bc</sup>	22,22 <sup>ab</sup>	22,14 <sup>ab</sup>	22,73 <sup>a</sup>	20,60 <sup>c</sup>	0,27	0,012
OD, %	28,57	29,37	38,10	26,98	26,98	0,04	0,283
Período total (dia 0 a 35)							
CRDM, kg/dia	0,51	0,56	0,57	0,57	0,51	0,01	0,070
GPD, kg/dia	0,37	0,41	0,39	0,41	0,37	0,01	0,091
CA, kg:kg	1,39	1,38	1,44	1,39	1,38	0,03	0,874
PCF, kg	20,82	22,22	21,94	22,19	20,87	0,27	0,084
OD, %	31,11 <sup>AB</sup>	32,70 <sup>AB</sup>	39,68 <sup>A</sup>	26,98 <sup>B</sup>	36,19 <sup>AB</sup>	0,03	0,009

<sup>a-b-c</sup>Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na linha, diferem entre si de acordo com o teste de Duncan (P < 0,05).

<sup>A-B-C</sup>As proporções observadas (%) seguidas por diferentes letras minúsculas dentro da mesma linha diferem usando um teste da diferença entre as lsmeans, através da estatística  $\chi^2$  (P < 0,05).

<sup>1</sup>9 repetições de baias por tratamento com 3 animais por baia.

<sup>2</sup>CRDM: consumo de ração diário médio; GPD: ganho de peso diário; CA: conversão alimentar; PCF: peso corporal final; OD: ocorrência de diarreia.

<sup>3</sup>-D<sub>3</sub>= sem fonte suplementar de vitamina D (controle negativo), +D<sub>3</sub>= 100% da exigência de vitamina D suplementada pelo colecalciferol (2707 UI na fase pré- inicial I, 2405 UI na fase pré-inicial II, 1969 UI na fase inicial) sem suplementação de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeos (controle positivo), D<sub>3</sub>+0,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 0,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo, D<sub>3</sub>+1,0= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,0 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo e D<sub>3</sub>+1,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo.

<sup>4</sup>Erro padrão da média agrupado.

c. Perfil bioquímico e imunológico sanguíneos

Na fase pré-inicial II houve um aumento ( $P>0,05$ ) na atividade da fosfatase alcalina sérica de leitões alimentados com os tratamentos  $+D_3$  em comparação aos tratamentos  $D_3+0,5$  e  $D_3+1,5$  (Tabela 6). As demais variáveis não apresentaram efeitos ( $P> 0,05$ ).

**Tabela 5.** Perfil bioquímico sanguíneo de suínos na fase de creche alimentados com dietas suplementadas com  $1,25(OH)_2D_3$ -glicosídeo (Exp. II)<sup>1</sup>

Variáveis	Tratamentos dietéticos <sup>2</sup>					EPM <sup>4</sup>	P-value
	-D <sub>3</sub>	+D <sub>3</sub>	D <sub>3</sub> +0,5	D <sub>3</sub> +1,0	D <sub>3</sub> +1,5		
Pré II (21 dias)							
Ureia (mg/dL)	19,94	18,84	18,21	17,47	20,87	0,62	0,427
Fósforo (mg/dL)	8,21	8,67	8,66	8,80	8,49	0,12	0,462
Cálcio (mg/dL)	8,76	8,99	8,80	8,80	8,84	0,06	0,781
Magnésio (mg/dL)	2,16	2,08	1,99	2,04	2,00	0,03	0,357
Fosfatase alcalina (U/L)	296,98 <sup>ab</sup>	337,63 <sup>a</sup>	266,90 <sup>b</sup>	308,81 <sup>ab</sup>	272,91 <sup>b</sup>	8,76	0,018
Inicial (35 dias)							
Ureia (mg/dL)	19,57	19,09	17,80	17,65	19,49	0,42	0,426
Fósforo (mg/dL)	8,35	8,72	9,54	9,00	9,23	0,15	0,059
Cálcio (mg/dL)	9,51	8,98	9,84	9,54	9,36	0,11	0,060
Magnésio (mg/dL)	2,14	1,98	2,15	2,14	2,03	0,04	0,405
Fosfatase alcalina (U/L)	457,96	394,30	387,60	444,97	444,81	12,69	0,216
25(OH)D <sub>3</sub> (mg/mL)	8,25 <sup>b</sup>	18,92 <sup>a</sup>	17,05 <sup>a</sup>	19,75 <sup>a</sup>	23,13 <sup>a</sup>	2,44	0,007

<sup>a-b-c</sup>Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na linha, diferem entre si de acordo com o teste de Duncan ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>9 repetições de baias por tratamento com 3 animais por baia.

<sup>2</sup>-D<sub>3</sub>= sem fonte suplementar de vitamina D (controle negativo), +D<sub>3</sub>= 100% da exigência de vitamina D suplementada pelo colecalciferol (2707 UI na fase pré- inicial I, 2405 UI na fase pré-inicial II, 1969 UI na fase inicial) sem suplementação de  $1,25(OH)_2D_3$  glicosídeos (controle positivo), D<sub>3</sub>+0,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 0,5 µg de  $1,25(OH)_2D_3$  glicosídeo, D<sub>3</sub>+1,0= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,0 µg de  $1,25(OH)_2D_3$  glicosídeo e D<sub>3</sub>+1,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,5 µg de  $1,25(OH)_2D_3$  glicosídeo.

<sup>4</sup>Erro padrão da média agrupado.

Na fase inicial os leitões que consumiram o tratamento dietético -D<sub>3</sub> mostraram concentrações séricas de 25(OH)D<sub>3</sub> inferiores ( $P<0,05$ ) aos demais tratamentos (+D<sub>3</sub>, D<sub>3</sub>+0,5, D<sub>3</sub>+1,0 e D<sub>3</sub>+1,5).

Os valores de leucócitos apresentaram uma diminuição em sua concentração ( $P<0,05$ ) na fase pré II para leitões alimentados com o tratamento dietético D<sub>3</sub>+1,5 em comparação ao tratamento D<sub>3</sub>+1,0 (Tabela 7).

**Tabela 6.** Hemograma sanguíneo de leitões na fase de creche alimentados com dietas suplementadas com 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-glicosídeo (Exp. II)<sup>1</sup>

Variáveis <sup>2</sup>	Tratamentos dietéticos <sup>3</sup>					EPM <sup>4</sup>	P-value
	-D <sub>3</sub>	+D <sub>3</sub>	D <sub>3</sub> +0,5	D <sub>3</sub> +1,0	D <sub>3</sub> +1,5		
Pré II (21 dias)							
Hemácias	6,25	5,858	5,99	5,66	5,87	0,18	0,219
Hemoglobina	11,50	11,37	11,62	10,74	11,04	0,25	0,119
Hematócrito	34,66	35,54	34,91	32,29	33,12	0,96	0,124
VCM, fL	57,67	56,40	58,28	57,66	57,45	1,00	0,758
HCM	16,78	17,14	17,57	17,51	16,47	0,68	0,763
CHCM, g/dL	33,09	32,22	33,21	33,26	33,24	0,44	0,385
PP, g/dL	5,51	5,24	5,67	5,40	5,38	0,11	0,092
Plaquetas, 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	497,72	513,53	518,18	515,30	511,34	44,57	0,998
Leucócitos, mm <sup>3</sup>	30,41 <sup>ab</sup>	26,95 <sup>ab</sup>	33,13 <sup>ab</sup>	39,85 <sup>a</sup>	23,84 <sup>b</sup>	3,98	0,033
Segmentados, %	43,19	44,22	45,09	44,47	48,76	3,56	0,837
Eosinófilos, %	0,84 <sup>b</sup>	2,24 <sup>a</sup>	0,68 <sup>c</sup>	1,20 <sup>ab</sup>	1,01 <sup>ab</sup>	0,32	0,005
Monócitos, %	2,23	1,48	1,72	1,13	2,48	1,55	0,116
Linfócitos, mm <sup>3</sup>	52,79	45,00	49,05	52,32	47,25	3,77	0,532
Inicial (35 dias)							
Hemácias	5,57	5,63	5,48	5,56	5,44	0,11	0,785
Hemoglobina	10,91	11,18	10,89	10,95	10,73	0,20	0,650
Hematócrito	32,88	33,77	32,88	32,92	32,47	0,62	0,693
VCM, fL	59,08	60,11	60,08	59,20	59,72	0,53	0,498
RDW	17,34	17,30	17,91	16,72	17,32	0,57	0,693
CHCM, g/dL	33,17	33,12	33,13	33,25	33,05	0,08	0,592
PP, g/dL	5,82	5,51	5,64	5,58	5,69	0,12	0,441
Plaquetas, 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	391,18	419,68	349,76	430,95	405,59	28,57	0,307
Leucócitos, mm <sup>3</sup>	29,14	27,39	23,41	28,54	24,94	2,74	0,472
Segmentados, %	36,74	40,59	34,35	40,49	38,30	2,61	0,386
Eosinófilos, %	1,03	0,69	1,43	0,68	0,97	0,22	0,075
Monócitos, %	2,35	2,59	2,34	3,55	2,13	0,45	0,162
Linfócitos, mm <sup>3</sup>	58,76	54,95	61,54	55,02	58,07	2,62	0,341

<sup>a-b-c</sup>Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na linha, diferem entre si de acordo com o teste de Duncan (P < 0,05).

<sup>1</sup>9 repetições de baias por tratamento com 3 animais por baia.

<sup>2</sup>VCM = Volume Corpuscular Médio; HCM = Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM = Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; PP = Proteínas plasmáticas

<sup>3</sup>-D<sub>3</sub>= sem fonte suplementar de vitamina D (controle negativo), +D<sub>3</sub>= 100% da exigência de vitamina D suplementada pelo colecalciferol (2707 UI na fase pré- inicial I, 2405 UI na fase pré-inicial II, 1969 UI na fase inicial) sem suplementação de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeos (controle positivo), D<sub>3</sub>+0,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 0,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo, D<sub>3</sub>+1,0= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,0 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo e D<sub>3</sub>+1,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo.

<sup>4</sup>Erro padrão da média agrupado.

Na fase pré II a percentagem de eosinófilos encontrada no sangue dos leitões alimentados com o tratamento D<sub>3</sub>+0,5 foi inferior (P< 0,005) em relação aos tratamentos - D<sub>3</sub>, +D<sub>3</sub> (Tabela 7). As demais variáveis não apresentaram efeito (P>0,05).

d. Peso relativo de órgãos e pH do conteúdo do trato digestório, e composição físico-química dos órgãos e ossos

Não houve efeito (P>0,05), de tratamento (-D<sub>3</sub>, +D<sub>3</sub>, D<sub>3</sub>+0,5, D<sub>3</sub>+1,0, D<sub>3</sub>+1,5) sobre as variáveis de peso relativo dos órgãos, comprimento do intestino delgado e grosso pH do conteúdo gastrointestinal (Tabela 8).

**Tabela 7.** Peso relativo de órgãos, comprimento dos intestinos delgado e grosso, e pH do conteúdo do trato digestório de leitões na fase de creche alimentados com dietas suplementadas com 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-glicosídeo aos 35 dias de idade (Exp. II)<sup>1</sup>

Variáveis	Tratamentos dietéticos <sup>2</sup>					EPM <sup>3</sup>	P-value
	-D <sub>3</sub>	+D <sub>3</sub>	D <sub>3</sub> +0,5	D <sub>3</sub> +1,0	D <sub>3</sub> +1,5		
Coração, %	0,49	0,53	0,51	0,48	0,50	0,01	0,781
Rins, %	0,57	0,57	0,58	0,59	0,59	0,01	0,982
Fígado vesícula, %	3,11	3,03	3,05	2,89	3,04	0,06	0,739
Estomago vazio, %	0,80	0,77	0,76	0,75	0,77	0,01	0,824
Baço, %	0,19	0,23	0,20	0,24	0,25	0,01	0,522
Ceco vazio, %	0,28	0,25	0,25	0,24	0,24	0,01	0,401
Cólon vazio, %	2,01	2,08	1,91	2,00	2,11	0,05	0,724
ID vazio, %	4,55	4,68	4,66	4,30	4,24	0,09	0,452
ID, m	13,55	12,52	12,30	11,76	13,03	0,31	0,216
IG, m	3,13	3,41	3,02	3,23	3,26	0,07	0,403
pH estômago	3,09	3,30	4,07	3,95	4,13	0,24	0,467
pH jejuno	6,17	6,34	6,62	6,28	6,28	0,09	0,678
pH íleo	6,63	5,71	6,62	6,72	6,13	0,13	0,066
pH ceco	5,46	5,32	5,32	5,47	5,36	0,07	0,862
pH cólon	5,97	5,90	5,88	5,89	5,89	0,05	0,981

<sup>1</sup>6 repetições por tratamento

<sup>2</sup>-D<sub>3</sub>= sem fonte suplementar de vitamina D (controle negativo), +D<sub>3</sub>= 100% da exigência de vitamina D suplementada pelo colecalciferol (2707 UI na fase pré- inicial I, 2405 UI na fase pré-inicial II, 1969 UI na fase inicial) sem suplementação de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeos (controle positivo), D<sub>3</sub>+0,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 0,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo, D<sub>3</sub>+1,0= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,0 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo e D<sub>3</sub>+1,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo.

<sup>3</sup>Erro padrão da média agrupado.

A percentagem de matéria orgânica do coração dos leitões alimentados com o tratamento  $D_3+1,5$  foi superior ( $P<0,05$ ) em relação ao tratamento  $D_3+1,5$  (Tabela 9).

A matéria orgânica do fígado apresentou valores inferiores ( $P<0,05$ ) para o tratamento  $D_3+1,5$  em relação aos demais tratamentos. A matéria orgânica dos rins foi inferior ( $P<0,05$ ) para os leitões que consumiram o tratamento  $D_3+1,5$  em comparação aos tratamentos  $-D_3$ ,  $+D_3$  e  $D_3+0,5$  (Tabela 9).

Os leitões que consumiram o tratamento dietético  $D_3+1,5$  apresentaram menores concentrações de cálcio no coração em comparação aos tratamentos  $-D_3$ ,  $+D_3$  e  $D_3+0,5$ . A concentração de cálcio nos ossos foi inferior ( $P<0,05$ ) para os leitões que consumiram o tratamento dietético  $+D_3$  e  $D_3+0,5$  em comparação aos que consumiram os tratamentos  $-D_3$ ,  $D_3+1,0$  e  $D_3+1,5$  (Tabela 9).

A concentração de fósforo no fígado foi inferior ( $P<0,05$ ) para os leitões que consumiram o tratamento dietético  $D_3+1,5$  em comparação aos tratamentos  $-D_3$ ,  $+D_3$  e  $D_3+0,5$  (Tabela 9).

A percentagem de magnésio nos ossos foi inferior para o tratamento sem inclusão de vitamina D ( $-D_3$ ) quando comparado aos demais tratamentos (Tabela 9).

**Tabela 8.** Composição físico-química de órgãos e ossos de suínos na fase de creche alimentados com dietas suplementadas com 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-glicosídeo aos 35 dias de idade (Exp. II)<sup>1</sup>

Variáveis	Tratamentos dietéticos <sup>2</sup>					EPM <sup>3</sup>	P-value
	-D <sub>3</sub>	+D <sub>3</sub>	D <sub>3</sub> +0,5	D <sub>3</sub> +1,0	D <sub>3</sub> +1,5		
Matéria orgânica (%)							
Coração	89,36 <sup>b</sup>	88,85 <sup>b</sup>	88,87 <sup>b</sup>	89,59 <sup>ab</sup>	90,48 <sup>a</sup>	0,17	0,007
Fígado	84,56 <sup>a</sup>	84,58 <sup>a</sup>	82,86 <sup>b</sup>	79,99 <sup>c</sup>	77,51 <sup>d</sup>	0,56	0,001
Rins	87,04 <sup>a</sup>	85,17 <sup>ab</sup>	85,96 <sup>a</sup>	83,89 <sup>bc</sup>	83,17 <sup>c</sup>	0,38	0,002
Ossos	40,59	40,32	39,55	40,49	41,06	0,45	0,880
Matéria mineral (%)							
Coração	4,82	5,11	4,61	4,99	4,20	0,11	0,102
Fígado	5,77	5,51	5,84	6,55	5,99	0,13	0,120
Rins	6,74	7,03	7,40	7,79	7,19	0,15	0,293
Ossos	52,03	52,21	51,98	51,630	51,47	0,41	0,979
Cálcio (%)							
Coração	0,08 <sup>ab</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,08 <sup>ab</sup>	0,07 <sup>b</sup>	0,00	0,025
Fígado	0,09	0,09	0,08	0,08	0,08	0,00	0,893
Rins	0,09	0,09	0,08	0,08	0,09	0,00	0,242
Ossos	13,13 <sup>ab</sup>	11,47 <sup>bc</sup>	10,65 <sup>c</sup>	12,62 <sup>ab</sup>	14,06 <sup>a</sup>	0,34	0,004
Fósforo (%)							
Coração	0,31	0,30	0,26	0,27	0,26	0,01	0,351
Fígado	0,49 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>	0,49 <sup>a</sup>	0,43 <sup>ab</sup>	0,36 <sup>b</sup>	0,01	0,023
Rins	0,45	0,49	0,46	0,47	0,41	0,01	0,205
Ossos	9,31	9,76	8,52	7,88	7,99	0,28	0,097
Magnésio (%)							
Ossos	0,37 <sup>b</sup>	0,43 <sup>ab</sup>	0,43 <sup>a</sup>	0,48 <sup>a</sup>	0,49 <sup>a</sup>	0,01	0,003

<sup>a-b-c</sup>Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na linha, diferem entre si de acordo com o teste de Duncan (P < 0,05).

<sup>1</sup>6 repetições por tratamento.

<sup>2</sup>-D<sub>3</sub>= sem fonte suplementar de vitamina D (controle negativo), +D<sub>3</sub>= 100% da exigência de vitamina D suplementada pelo colecalciferol (2707 UI na fase pré- inicial I, 2405 UI na fase pré-inicial II, 1969 UI na fase inicial) sem suplementação de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeos (controle positivo), D<sub>3</sub>+0,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 0,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo, D<sub>3</sub>+1,0= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,0 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo e D<sub>3</sub>+1,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,5 µg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo.

<sup>3</sup>Erro padrão da média agrupado.

## e. Características ósseas

Não houve efeito ( $P>0,05$ ), de tratamento ( $-D_3$ ,  $+D_3$ ,  $D_3+0,5$ ,  $D_3+1,0$ ,  $D_3+1,5$ ) para as variáveis de desenvolvimento ósseo: morfometria, resistência e densitometria dos metacarpos e fêmures (Tabela 10).

**Tabela 9.** Morfometria, resistência e densitometria óssea de metacarpos, metatarsos e fêmures de suínos na fase de creche alimentados com dietas suplementadas com  $1,25(OH)_2D_3$ -glicosídeo no dia 35 (Exp. II)<sup>1</sup>

Variáveis <sup>2</sup>	Tratamentos dietéticos <sup>3</sup>					EPM <sup>4</sup>	P-value
	$-D_3$	$+D_3$	$D_3+0,5$	$D_3+1,0$	$D_3+1,5$		
Morfometria dos metatarsos (mm)							
Altura epífise	17,34	17,11	17,86	18,00	17,17	0,16	0,279
Largura epífise	14,66	14,81	14,81	14,64	13,84	0,14	0,287
Altura diáfise	35,70	34,10	34,10	35,17	35,56	0,33	0,212
Largura diáfise	11,99	12,54	12,54	12,02	11,16	0,17	0,289
Comp, total	50,55	50,30	50,30	51,61	50,11	0,30	0,689
Placa de cresc,	6,06	6,53	6,68	6,44	6,61	0,15	0,741
Peso, g	8,43	8,75	8,67	8,60	8,28	0,12	0,775
Resistência e densidade dos metacarpos							
Área, cm <sup>2</sup>	4,53	4,32	4,28	4,34	4,26	0,11	0,951
CMO, g	0,88	0,83	0,84	0,85	0,85	0,03	0,992
DMO, g/cm <sup>2</sup>	0,19	0,19	0,20	0,19	0,20	0,02	0,878
Resistencia, N	356,11	331,98	347,40	317,26	322,96	13,26	0,877
Índice Seedor	165,21	172,75	171,17	168,53	164,38	2,08	0,679
Resistência e densidade óssea dos fêmures							
Peso, g	86,91	89,50	85,41	84,44	86,51	1,08	0,673
Área, cm <sup>2</sup>	30,57	31,22	30,37	30,17	30,39	0,26	0,772
CMO, g	11,86	12,22	12,12	11,57	13,03	0,24	0,381
DMO, g/cm <sup>2</sup>	0,39	0,39	0,40	0,38	0,43	0,01	0,098
Resistência, N	1425,75	1279,84	1379,07	1351,50	1313,11	29,62	0,597
Índice de Seedor	684,83	716,78	696,40	673,43	690,98	7,52	0,514

<sup>1</sup>6 repetições por tratamento.

<sup>2</sup> CMO= Conteúdo mineral ósseo; DMO=Densidade mineral óssea

<sup>3</sup> $-D_3$ = sem fonte suplementar de vitamina D (controle negativo),  $+D_3$ = 100% da exigência de vitamina D suplementada pelo colecalciferol (2707 UI na fase pré- inicial I, 2405 UI na fase pré-inicial II, 1969 UI na fase inicial) sem suplementação de  $1,25(OH)_2D_3$  glicosídeos (controle positivo),  $D_3+0,5$ = 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 0,5 µg de  $1,25(OH)_2D_3$  glicosídeo,  $D_3+1,0$ = 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,0 µg de  $1,25(OH)_2D_3$  glicosídeo e  $D_3+1,5$ = 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,5 µg de  $1,25(OH)_2D_3$  glicosídeo.

<sup>4</sup>Erro padrão da média agrupado.

## f. Morfometria jejunal

Não houve efeito de tratamento (-D<sub>3</sub>, +D<sub>3</sub>, D<sub>3</sub>+0,5, D<sub>3</sub>+1,0, D<sub>3</sub>+1,5) sobre as variáveis altura de vilosidades (P= 0,926), profundidade de cripta (P= 0,805) e relação vilo:cripta (P=0,803) (Tabela 11), o que mostra que os tratamentos estudados não alteraram as vilosidades intestinais.

**Tabela 10.** Morfometria jejunal de leitões alimentados com dietas suplementadas com 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-glicosídeo no dia 35 (Exp. II)<sup>1</sup>

Variáveis	Tratamentos dietéticos <sup>1</sup>					EPM <sup>3</sup>	P-value
	-D <sub>3</sub>	+D <sub>3</sub>	D <sub>3</sub> +0,5	D <sub>3</sub> +1,0	D <sub>3</sub> +1,5		
Altura de vilosidade (AV, μm)	385	408	405	356	396	20,46	0,926
Profundidade de cripta (PC, μm)	215	226	192	220	215	10,08	0,805
Relação AV:PC	1,91	1,88	2,11	1,81	2,03	0,126	0,803

<sup>1</sup>6 repetições por tratamento.

<sup>2</sup>-D<sub>3</sub>= sem fonte suplementar de vitamina D (controle negativo), +D<sub>3</sub>= 100% da exigência de vitamina D suplementada pelo colecalciferol (2707 UI na fase pré- inicial I, 2405 UI na fase pré-inicial II, 1969 UI na fase inicial) sem suplementação de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeos (controle positivo), D<sub>3</sub>+0,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 0,5 μg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo, D<sub>3</sub>+1,0= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,0 μg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo e D<sub>3</sub>+1,5= 100% exigência de vitamina D suplementada com colecalciferol de acordo com cada fase de criação + 1,5 μg de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> glicosídeo.

<sup>3</sup>Erro padrão da média agrupado.

## 5 DISCUSSÃO

### Experimento I

A  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  é um dos principais responsáveis pelo aumento na absorção intestinal do cálcio e fósforo (FURLAN e POZZA, 2014), causando hipercalcemia e hiperfosfatemia, porém, no presente estudo a utilização do colecalciferol e do glicosídeo não influenciou diretamente no aumento da absorção intestinal.

Diferentemente da  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  sintética que está prontamente disponível e apresenta uma rápida absorção intestinal, a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glicosídeo necessita de uma quebra do glicosídeo para ser absorvida e, dessa forma, é mais difícil de ocorrer um pico de absorção de cálcio e fósforo porque a sua liberação é mais lenta (ZIMMERMAN et al., 2003). Isso pode explicar a semelhança nos resultados encontrados neste estudo, mostrando que  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -glicosídeo não influenciou sobre a digestibilidade dos nutrientes e na excreção dos minerais cálcio e fósforo no período avaliando, necessitando de um período de avaliação maior.

### Experimento II

Segundo Zimmerman et al. (2015), o  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -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  $\text{D}_3$  aparentemente resiste ao processo de clivagem no íleo, sendo liberada somente no cólon.

A fase de creche, mais especificamente a fase de desmame do leitão é considerada a mais desafiadora da vida dos leitões, geralmente acompanhada de desempenho reduzido devido à redução no consumo de ração que juntamente com o sistema digestório e imunológico imaturo, que causam distúrbios gastrintestinais, principalmente a diarreia (JAYARAMAN & NYACHITY, 2017).

É possível correlacionar à falta de efeitos positivos dos tratamentos  $\text{D}_3+0,5$  e  $\text{D}_3+1,5$  nos resultados de desempenho zootécnico com a ocorrência de diarreia, já que estes tratamentos, bem como os  $-\text{D}_3$  e  $+\text{D}_3$  apresentaram valores elevados de ocorrência de diarreia.

A diarreia na fase de creche acontece com frequência e acaba sendo algo comum nessa fase de criação, devido a mudanças na dieta, mudanças de instalações e separação da mãe.

É conhecido que animais com diarreia apresentam a digestibilidade e absorção dos nutrientes prejudicada e como a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  glicosídeo será liberada para uso somente no cólon é provável que o processo de clivagem da glicosidase pelas populações bacterianas não tenham ocorrido, e com isso a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  glicosídeo não foi absorvida em quantidade necessária para causar alguma melhora no desempenho zootécnico.

Um ponto a ser observado é que os animais alimentados com o tratamento dietético  $\text{D}_3+1,0$  apresentaram menor ocorrência de diarreia na fase pré-inicial II e no período total e os animais desse mesmo tratamento apresentaram valores superiores para CRDM, GPD e PCF na fase inicial. Essa melhora pode estar relacionada com redução na ocorrência de diarreia dos leitões que consumiram esta dieta experimental, já sendo conhecido que leitões com um menor distúrbio gastrointestinal apresentam melhor aproveitamento da dieta e conseqüentemente melhor desempenho zootécnico e tal resultado pode indicar que a adição da  $1,25$  dihidroxicolecalciferol glicosídeo às dietas pode minimizar perdas energéticas porque as etapas para adição das hidroxilas OH não são necessárias (VIETES et al., 2018).

O fato dos suínos alimentados com o tratamento dietético  $-\text{D}_3$  apresentar baixas concentrações séricas de  $25(\text{OH})\text{D}_3$  está relacionado à composição da dieta, já que não foi adicionada nenhuma fonte de vitamina D.

Os animais que receberam o tratamento dietético  $\text{D}_3+1,0$  apresentaram a maior atividade sérica da fosfatase alcalina. Isso é atribuído ao fato de que a vitamina D estimula a produção de fosfatase alcalina, que age sinergicamente com o paratormônio na ativação e maturação das células osteoclásticas (PREMAOR & FURLANETTO, 2006). Baseado nisso, a atividade da fosfatase alcalina está relacionado com o desenvolvimento ósseo e, conseqüentemente, quando há um maior desenvolvimento ósseo, ocorre maior atividade dessa enzima (AROUCA et al., 2010).

Analisando os resultados da atividade sérica da fosfatase alcalina comparados com o de desenvolvimento ósseo, é possível observar que apesar de haver uma maior atividade enzimática, não foi possível observar uma alteração nos parâmetros de desenvolvimento ósseo, independente do tratamento dietético.

Sabe-se que a vitamina D tem grande interferência no sistema imunológico, e de acordo com Silva et al, (2020), diversas condições patológicas como doenças inflamatórias, cardiopatias e doenças autoimunes estão correlacionadas a quantidades insuficientes de vitamina D no organismo. Os leucócitos são conhecidos também como glóbulos brancos e

agem na defesa do organismo e, portanto, os valores elevados dessas células imunes podem ser um indicativo de alterações imunológicas.

Os leitões que receberam  $D_3+1,0$  glicosídeo na dieta apresentaram as maiores concentrações de leucócitos no sangue, os animais desse mesmo tratamento apresentaram a menor ocorrência de diarreia, indicando assim que apesar de altos valores de leucócitos no sangue a vitamina D estava em níveis adequados, capaz de auxiliar o sistema imune dos leitões, sem que nenhum outro distúrbio fosse sentido.

Os resultados análogos de cálcio e fósforo séricos nas diferentes dietas testadas podem ser justificados pela homeostase destes minerais no organismo dos leitões, visto que as dietas estavam com níveis um pouco acima do recomendado de cálcio e fósforo, isso pode ter feito com que os níveis elevados fossem absorvidos no intestino e, dessa forma, o efeito da vitamina D pode ter se tornado desprezível.

De acordo com Inda Filho & Melamed (2013), elevados níveis de cálcio na circulação sanguínea e fator de crescimento de fibroblastos-23 (FGF-23) são capazes de suprimir diretamente a atividade da  $1\alpha$ -hidroxilase renal, através da regulação da transcrição do gene hidroxilase- $\alpha$ , e indiretamente através da supressão de PTH, isso faz com que a conversão da  $25(OH)D_3$  em  $1,25$  dihidroxicolecalciferol seja prejudicada.

A falta de efeitos significativos para as variáveis de peso relativo dos órgãos e comprimentos do intestino delgado e grosso, bem como para o pH conteúdo do trato digestório dos leitões mostra um desenvolvimento coerente na biometria de órgãos, até mesmo em animais que consumiram a dieta restrita de vitamina D.

A menor deposição de cálcio nos tratamentos ocorreu nos tratamentos  $+D_3$  e  $D_3+0,5$ , porém, essa menor deposição não teve relevância biológica, já que não houve nenhuma modificação no desenvolvimento ósseo.

A falta de efeitos para as variáveis de desenvolvimento ósseo nos tratamentos estudados pode ser explicada devido ao fato de que melhoras significativas e o aparecimento de lesões ou malformações no sistema ósseo dos suínos podem demorar até dois meses após a deficiência de vitamina D para serem observadas em análises histológicas (YTREHUS et al., 2007).

Além disso, o calcitriol é um metabolito ativo que não pode ser armazenado pelo organismo e a sua meia-vida no organismo é aproximadamente de seis a oito horas, ou seja, a  $1,25(OH)_2D_3$  é excretada quando não utilizada (MOSEKILDE, 2005).

As vilosidades intestinais se mantiveram similares independentes da dieta fornecida, sugerindo que houve pouca ou nenhuma influência intestinal que pudesse alterar a arquitetura intestinal.

## **6 CONCLUSÃO**

A utilização da 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo, mais especificamente na complementação de 1,0ug de 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo se mostrou benéfica, pois melhorou CRDM, GPD, PCF, diminuiu a ocorrência de diarreia, aumentou a atividade da fosfatase alcalina e as concentrações leucócitos e eosinófilos, além de aumentar os níveis plasmáticos de vitamina D (comparado ao controle negativo). A suplementação com 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo não resultou em aumento do status de vitamina D comparado ao tratamento com colecalciferol, mas promoveu melhoras em alguns parâmetros fisiológicos e metabólicos.

## 7 REFERÊNCIAS

- AOAC: ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL. 17th ed., AOAC International, Arlington, 2000
- AROUCA, C.L.C.; FONTES, D.O.; SILVA, F.C.O.; SILVA, M.A.; CAMPOS, F.R.; ALMEIDA, F.R.C.L.; CORREA, G.S.S.; DE PAULA, E.; HAESE, D. Níveis de fósforo disponível para suínos machos castrados dos 60 aos 95 kg. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.12, p.2646-2655, 2010.
- BARRAL, D.; BARROS, A.C.; ARAÚJO, R.P.C.; Vitamina D: uma abordagem molecular. **Pesquisa Brasileira de Odontopediatria Clínica Integrada**, n. 7, v.3, p. 309-315, 2007.
- BAÊTA, F.C.; SOUZA, C.F. **Ambiência em edificações rurais: conforto animal**. Viçosa: UFV, 2 ed., p.71, 2010.
- FURLAN, A.C.; POZZA, P.C. **Exigências de Minerais para Suínos**. In: SAKOMURA, N.K.; et al. **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 1 a ed., 2014.
- HAUSSLER, M. R.; JURUTKA, P. W.; MIZWICKI, M. AND NORMAN, A. W. Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of  $1\alpha,25(\text{OH})_2$  vitamin D<sub>3</sub> : genomic and non-genomic mechanisms. **Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism**. v.25, p.543-559, 2011.
- HUANG, C.; QIAO, S.; LI, D. et al. Effects of Lactobacilli on the Performance, Diarrhea Incidence, VFA Concentration and Gastrointestinal Microbial Flora of Weaning Pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. v.17, n.3, p.401-409, 2004
- INDA FILHO, A.J.; MELAMED, M.L. Vitamin D and Kidney disease: what we know and what we do not know. **Brazilian Journal of Nephrology**. v.35, n.4, p.323-331, 2013.
- JAYARAMAN, B., & NYACHOTI, CM. Práticas de criação e resultados de saúde intestinal em leitões desmamados: Uma revisão. **Nutrição Animal**. v.3, n.3, p.205-211, 2017.
- MITRI, J.; MURARU, M.D.; PITTAS, A.G. Vitamin D and type 2 diabetes: a systematic review. **European Journal of Clinical Nutrition**. v.65, n.9, p.1005-15, 2011.
- MOSEKILDE, L. Vitamin D and the elderly. **Clinical Endocrinology**. v.62, p.265-281, 2005.
- PATIENCE, J.F.; UMBOH J.F.; CHAPLIN R.K.; NYACHOTI, C.M. **Nutritional and physiological responses of growing pigs exposed to a diurnal pattern of heat stress**. *Livestock Production Science*, v.96, p.205–214, 2005.
- PEKAS, J.C. Versatile swine laboratory apparatus for physiologic and metabolic studies. **Journal of Animal Science**, v. 2, p. 1303-1306, 1968.
- PREMAOR, M.O.; FURLANETTO, T.W. Hipovitaminose D em adultos: entendendo melhor a apresentação de uma velha doença. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. v.50, n.1, 2006.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; HANNAS, M. I.; DONZELE, J. L.; SAKOMURA, N. K.; PERAZZO, F. G.; SARAIVA, A.; ABREU, M. L. T.; RODRIGUES, P. B.;

OLIVEIRA, R. F.; BARRETO, S. L. T. AND BRITO, C. O. 2017. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4.ed. Departamento de Zootecnia/UFV, Viçosa, MG.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos**. Jaboticabal-SP – FUNEP, p. 262, 2016.

SEEDOR, J.G. QUARRUCCIO, H.A.; THOMPSON, D.D. The biophosphonate alendronate (MK-217) inhibit bone loss due to ovariectomi in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**. v.6, n. 4, p.339-346, 1991.

SILVA, A.R.; MOTA, A.S.; CAVALCANTE, W.A.; FERREIRA, E.A.A. 25-hidroxivitamina D e exposição solar: uma análise epidemiológica entre os estudantes de medicina. **Brazilian Journal of Development**. v.6, n.2, p.9239–9258, 2020.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análises de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: Editora, UFV, 2002.

TRAUTENMULLER, H.; GENOVA, J.L.; FARIA, A.B.B.; MARTINS, J.S.; VIANA, S.C.M.; CASTILHA, L.D.; GONÇALVES JUNIOR, A.C.; BARALDI-ARTONI, S.M.; CARVALHO, P.L.O. Bone traits and gastrintestinal tract parameters os piglets fed cholecalciferol and 1,25-dihidroxycholecalciferol glycoside. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.50, 2021.

VIEITES, F.M.; BRUSAMARELO, E. CORRÊA, G.S.S.; SOUZA, C.S.; OLIVEIRA, C.F.S.; MORAES, G.H.K.; CARAMORI, J.G.J. 1,25 dihidroxicolecalciferol de origem herbal (*Solanum glaucophyllum*), mantem o desempenho e a qualidade óssea de frangos de corte fêmeas durante restrição de cálcio e fosforo. **Archivos de Zootecnia**. v.67, n.259, p.414-419, 2018.

YTREHUS, B.; CARLSON, C.S.; EKMAN, S. Etiology and pathogenesis of osteochondrosis. **Veterinary Pathology**, v.44, p.429-448, 2007.

ZIMMERMAN, D. R.; KOSZEWSKI, N. J.; HOY, D. A.; GOFF, J. P. AND HORST, R. L. Targeted delivery of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> to colon tissue and identification of a major 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> glycoside from *Solanum glaucophyllum* plant leaves. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**. v.148, p.318-325, 2015.

ZIMMERMAN, D.R.; GILL, S.; PAWLAK, E.; DALLORSO, M.E.; HORST, R.L. Isolation and identification of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-glycosides from *Solanum glaucophyllum*, in: **12<sup>th</sup> workshop on Vitamin D**, Maastricht, p.94, 2003.