

Efeitos do Ácido L-Glutâmico e da Vitamina D₃ nos Fêmures e Tibiotarsos de Pintos de Corte¹

Fernanda Alvares da Silva², George Henrique Kling de Moraes², Ana Cláudia Peres Rodrigues³, Luiz Fernando Teixeira Albino⁴, Horacio Santiago Rostagno⁴, Maria Goreti de Almeida Oliveira², Cláudio César Fonseca⁵, Flávia Escapini Fanchiotti²

RESUMO - Um experimento foi conduzido com o objetivo de estudar os efeitos de três níveis (5, 10 e 15%) de ácido L-glutâmico (L-Glu) e quatro níveis (0, 5000, 10.000 e 15.000 UI/kg) de vitamina D₃ (VD) nos parâmetros ósseos de pintos de corte machos, Hubbard. Os animais foram criados em baterias aquecidas e alimentados, à vontade, com dietas de aminoácidos purificados de 1 a 14 dias de idade. O experimento foi realizado em esquema fatorial, em delineamento inteiramente casualizado 3 x 4, com quatro repetições de sete aves cada. Observaram-se comprimentos máximos (37,61 e 50,36 mm), com 9,51% de L-Glu e 15.000 UI de VD e 9,99% de L-Glu e 15.000 UI de VD, para o fêmur e tibiotarso, respectivamente. O diâmetro do fêmur (3,62 mm) e tibiotarso (3,17 mm) aumentou até o nível máximo estimado, de 10,49% de L-Glu e 15.000 UI de VD, e 11,04% de L-Glu e 15.000 UI de VD, respectivamente. A resistência máxima estimada para o fêmur (52,47 kgf/mm) foi determinada com 7,57% de L-Glu e 8.978 UI, e a do tibiotarso (43,35 kgf/mm) com 6,24% de L-Glu e 12.591 UI de VD. Não foi observado efeito de tratamento nas concentrações de proteínas colagenosas (PC) no fêmur, que foi constante e igual a 23,44 mg/100 g. As menores concentrações de proteínas não-colagenosas (PNC) (2,5 mg/100 g e 2,15 mg/100 g) foram obtidas com 9,32% e 9,73% de L-Glu, no fêmur e tibiotarso, respectivamente. As maiores concentrações de proteínas totais (PT) no fêmur e tibiotarso foram de 30,04 mg/100 g e 30,03 mg/100 g. As aves alimentadas com 10% de L-Glu apresentaram adequado desenvolvimento dos ossos, baixas concentrações de PNC nos ossos e menor incidência de problemas de pernas.

Palavras-chave: L-glutâmico, vitamina D₃, pintos de corte, problemas de pernas, proteínas ósseas

Effects of L-Glutamic Acid and Vitamin D₃ on Femur and Tibiotarsus of Broiler Chicks

ABSTRACT - An experiment was conducted to study the effects of three levels (5, 10 and 15%) of L-Glutamic Acid (L-Glu) and four levels (0, 5000, 10,000 and 15,000 IU/kg of diet) of vitamin D₃ (VD) on bone parameters of 14 days male broilers, Hubbard. They were fed purified amino acid diets and reared in electrically heated batteries. The experimental design was a factorial 3 x 4 with four replicates with seven chicks each. The length of bones increased up to an estimated level of 9.51% of L-Glu and 15,000 IU of VD for femur bone (37.61 mm) and 9.99% of L-Glu and 15,000 IU of VD for tibiotarsus (50.36 mm). The femur (3.62 mm) and tibiotarsus (3.17 mm) diameters increased up, respectively, an estimated level of 10.49% of L-Glu and 15,000 IU of VD and 11.04% of L-Glu and 15,000 IU of VD. The maximum breaking strength for femur (52.47 kgf/mm) and tibiotarsus (43.35 kgf/mm) was obtained with 8,978 IU and 12,591 IU, respectively. No significant effects were observed on femur collagenous proteins contents (23.44 mg/100 g). On the other side, the smallest contents of non-collagenous proteins (NCP) were observed with 9.32% and 9.73% of L-Glu on femur (2.5 mg/100 g) and tibiotarsus (2.15 mg/100 g), respectively. The highest contents of total protein in femur and tibiotarsus were, respectively, 30.04 mg/100 g and 30.03 mg/100 g. Chicks fed 10% L-Glu and 15,000 IU VD had good development of bones, better performance, lower NCP contents and a lower incidence of leg problems.

Key Words: L-Glutamic acid, vitamin D₃, broiler chicks, bone development, bone proteins, leg problems

Introdução

O osso é composto de uma fase extracelular, que é formada, mantida e remodelada por três tipos de células: osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. É um tecido dinâmico, influenciado por fatores físicos, nutricionais e fisiológicos (RATH et al., 2000).

Os osteoblastos estão presentes nas superfícies dos ossos, onde a formação óssea ativa está ocorrendo, e secretam matriz calcificada, que é principalmente colágeno, mas também 10 a 15% de proteínas não-colagenosas, que incluem osteopontina, osteonectina, sialoproteína e osteocalcina. Além disso, uma pequena quantidade de proteoglicano está presente (GAY et al., 2000).

¹ Parte da tese do primeiro autor apresentada à Universidade Federal de Viçosa para obtenção do grau de "Doctor Scientiae" em Zootecnia. Projeto financiado pela FAPEMIG. E-mail: falvares@ufv.br

² Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV, 36571-000, Viçosa, MG.

³ Departamento de Bioquímica da UFJF, Juiz de Fora, MG.

⁴ Departamento de Zootecnia da UFV, 36571-000, Viçosa, MG.

⁵ Departamento de Veterinária da UFV, 36571-000, Viçosa, MG.

Hormônios como paratormônio, estrógenos e dihidroxicalciferol coordenam as principais atividades do metabolismo ósseo, com vistas ao seu aumento em diâmetro e comprimento durante o crescimento das aves.

Sabe-se que quantidades adequadas de vitamina D são requeridas para crescimento normal, maturação, mineralização e manutenção do tecido ósseo maduro (NORMAN e HURWITZ, 1993, ANDERSON e TOVERUD, 1994).

RODRIGUES et al. (1996) observaram que pintos alimentados com 12,5% de L-Glu apresentaram melhor crescimento ósseo que aqueles que receberam 5%, confirmando que o nível de nitrogênio não-específico de dietas purificadas é fundamental para o desenvolvimento de pintos, conforme observações feitas por FEATHERSTON (1976), MARUYAMA et al. (1976) e MORAES et al. (1987).

Alguns trabalhos têm mostrado que o nível de nitrogênio não-específico da dieta influencia o aparecimento das anomalias nas pernas (SILVA e MORAES, 1995; RIBEIRO et al., 1995a; GUIMARÃES et al., 1996). Essas observações sugerem que os problemas de pernas podem estar associados às características genéticas dos animais, que apresentam crescimento e acúmulo de tecido muscular muito rápidos e, provavelmente, o esqueleto ósseo não acompanha o mesmo desenvolvimento.

Outros estudos foram conduzidos enfocando diferentes níveis de vitamina D (PERINI, 1993), vitamina K (RODRIGUES e MORAES, 1995) e da relação cálcio e fósforo da dieta (EDWARDS e VELTMAN, 1983; CORNÉLIO, 1995) sobre a incidência de problemas de pernas. Verificou-se que os animais com alta incidência de problemas de pernas apresentaram altos teores de proteínas não-colagenosas ou extraíveis com EDTA (HAUSCHKA, 1985). Na fração de proteínas não-colagenosas estão pelo menos três proteínas que contêm resíduos do aminoácido g-carboxiglutâmico (Gla), as quais foram denominadas Gla-proteínas.

Os objetivos deste estudo foram avaliar os efeitos do ácido L-glutâmico (L-Glu) e da vitamina D₃ (VD) nos parâmetros ósseos de tibiotarsos e fêmures e problemas de pernas de pintos de corte de 1 a 14 dias de idade.

Material e Métodos

O experimento foi realizado utilizando-se delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 4 (três níveis de ácido L-glutâmico x quatro níveis

de vitamina D₃), no Setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia, na Universidade Federal de Viçosa.

Foram utilizados 336 pintos de corte, machos, Hubbard, com 1 dia de idade e peso médio de 40 gramas. Os tratamentos consistiram de dieta básica purificada (GUIMARÃES, 1988) (Tabela 1), contendo todos os aminoácidos essenciais, vitaminas (exceto vitamina D₃), minerais e suplementada com três níveis de ácido L-glutâmico (5, 10 e 15%), combinados com quatro níveis de vitamina D₃ (0, 5.000, 10.000 e 15.000 UI/kg), com quatro repetições e sete aves por unidade experimental. As aves foram alojadas em baterias aquecidas com pisos de tela elevados e receberam água e dieta ad libitum durante o período experimental.

Ao término do período experimental, 16 aves de cada tratamento foram selecionadas ao acaso e

Tabela 1 - Composição da dieta básica purificada
Table 1 - Composition of the purified diet

Ingredientes <i>Ingredients</i>	%
Aminoácidos essenciais ¹ <i>Essential amino acids¹</i>	8,94
Mistura vitamínica ² <i>Vitamin premix²</i>	4,48
Mistura mineral ³ <i>Mineral premix³</i>	9,10
Bicarbonato de sódio <i>Sodium bicarbonate</i>	1,00
Óleo de soja <i>Soybean oil</i>	15,00
Amido <i>Starch</i>	100,00

¹ L-Arg.HCl: 1,15% (L-Arg.HCl); L-His.HCl.H₂O: 0,41% (L-His.HCl.H₂O); L-Lis.HCl: 1,14% (L-Lis.HCl); L-Tir: 0,45% (L-Tir); L-Fen: 0,50% (L-Fen); L-Trp: 0,15% (L-Trp); L-Met: 0,35% (L-Met); L-Cis: 0,45% (L-Cis); L-Tre: 0,65% (L-Tre); L-Leu: 1,00% (L-Leu); L-Ile: 0,60% (L-Ile); L-Val: 0,69% (L-Val); L-Pro: 0,40% (L-Pro); Gli: 1,00% (Gli).

² Quantidade/kg dieta (*Amount/kg of diet*): Colina 60%: 3,3 g (*Choline*); Retinil-Palmitato: 5000 UI (*Retinyl palmitate*); Colecalciferol: variável (*Cholecalciferol*); D-a-Tocoferil Acetato: 22 UI (*D-a-Tocoferil acetate*); Menadiona Sódio Bissulfeto: 2 g (*Menadione sodium bisulfite*); Inositol: 1 g (*Inositol*); Riboflavina: 9 mg (*Riboflavin*); Tiamina-HCl: 6 mg (*Thiamine.HCl*); Pantotenato de Cálcio: 20 mg (*Calcium pantothenate*); Niacina: 50 mg (*Niacin*); Piridoxina: 8 mg (*Pyridoxine*); Ácido Fólico: 2 mg (*Folic acid*); Biotina: 0,3 mg (*Biotin*); B₁₂ (0,1%): 20 mg (*B₁₂ 0,1%*); BHT: 0,125 mg (*BHT*); Excipiente: 30 g (*Excipient*).

³ Quantidade/kg dieta (*Amount/kg of diet*): CaCO₃: 18,652 g; CaHPO₄.2H₂O: 30,53 g; K₂HPO₄: 11,2 g; NaCl: 6 g; FeSO₄: 0,2 g; ZnO: 0,1225 g; CuSO₄.H₂O: 0,015 g; MnSO₄.H₂O: 0,51 g; KI: 0,04 g; MgCO₃: 2,5 g; NaMoO₄.2H₂O: 1 g; NaSeO₃: 0,22 g; Casca de arroz: 30,3 g.

EM (ME) (kcal/kg): 2.804.

PB (CP) %: 12,6% (5% L-Glu), 17,1% (10% L-Glu) e 21,7% (15% L-Glu).

Relação Ca:P (Ca:P ratio) = 1,99.

sacrificadas por deslocamento cervical; e os ossos (tibiotalarso e fêmur) de ambas as pernas foram removidos, limpos de todo tecido aderente, sendo medidos seus comprimentos e diâmetros, com o uso de paquímetro, e, então, pesados.

Dez ossos, fêmures e tibiotalarsos de cada tratamento foram submetidos à resistência à quebra ou flexão dos ossos, utilizando-se o aparelho Instron Corporation IX Automated Materials Testing System 1,09, sempre no mesmo ponto de quebra.

Dez ossos de cada tratamento foram desengordurados com éter de petróleo por 10 horas e pesados. Posteriormente, foram submetidos à extração das proteínas não-colagenosas (PNC) com EDTA (Ácido etilendiamina tetracético). As concentrações das PNCs foram determinadas de acordo com BRADFORD (1976), utilizando albumina sérica bovina como padrão. Os ossos, após desmineralizados, foram lavados com água destilada e deionizada, para eliminar o EDTA, e usados para estimar as concentrações de proteínas colagenosas (PC). As concentrações de PC foram obtidas multiplicando-se o teor de nitrogênio pelo fator 6,25. As concentrações de proteínas totais (PT) foram obtidas pela soma das concentrações de PNC e PC encontradas anteriormente.

A análise estatística dos dados obtidos foi feita por regressão. A escolha do melhor modelo baseou-se no coeficiente de determinação (R^2), na significância dos coeficientes de regressão pelo teste "t" de Student e na coerência com o fenômeno biológico.

Resultados e Discussão

Os valores médios observados para as variáveis comprimento, diâmetro e resistência óssea de fêmures e tibiotalarsos são apresentados na Tabela 2. Efeitos similares de tratamentos foram observados sobre essas variáveis, conforme Tabela 3. Nas Figuras 1 e 2, observou-se efeito significativo de tratamento no comprimento do fêmur e tibiotalarso. Os comprimentos máximos estimados (37,61 mm para o fêmur e 50,36 mm para o tibiotalarso) foram obtidos com 9,51% de L-Glu e 15.000 UI de VD e 9,99% de L-Glu e 15.000 UI de VD, respectivamente.

Os menores comprimentos dos ossos tibiotalarso e fêmur foram obtidos com 5 e 15% de L-Glu, o que confirma o obtido por SILVA e MORAES (1995), os quais observaram redução dos comprimentos de tibiotalarsos e fêmures com a suplementação de 5% de L-Glu.

Os resultados obtidos estão de acordo com HEDSTROM et al. (1986) e PERRY et al. (1991), que observaram diferenças no comprimento dos tibiotalarsos e fêmures na deficiência e suplementação de VD.

Os tratamentos refletiram-se nos ossos, por meio do ganho de peso. Algumas dietas promoveram melhores taxas de desempenho, e as aves mais pesadas apresentaram ossos mais longos. As aves alimentadas com 5% de L-Glu apresentaram pior desempenho e maior incidência de problemas de pernas (SILVA et al., 2001), o que leva a concluir que o nível de

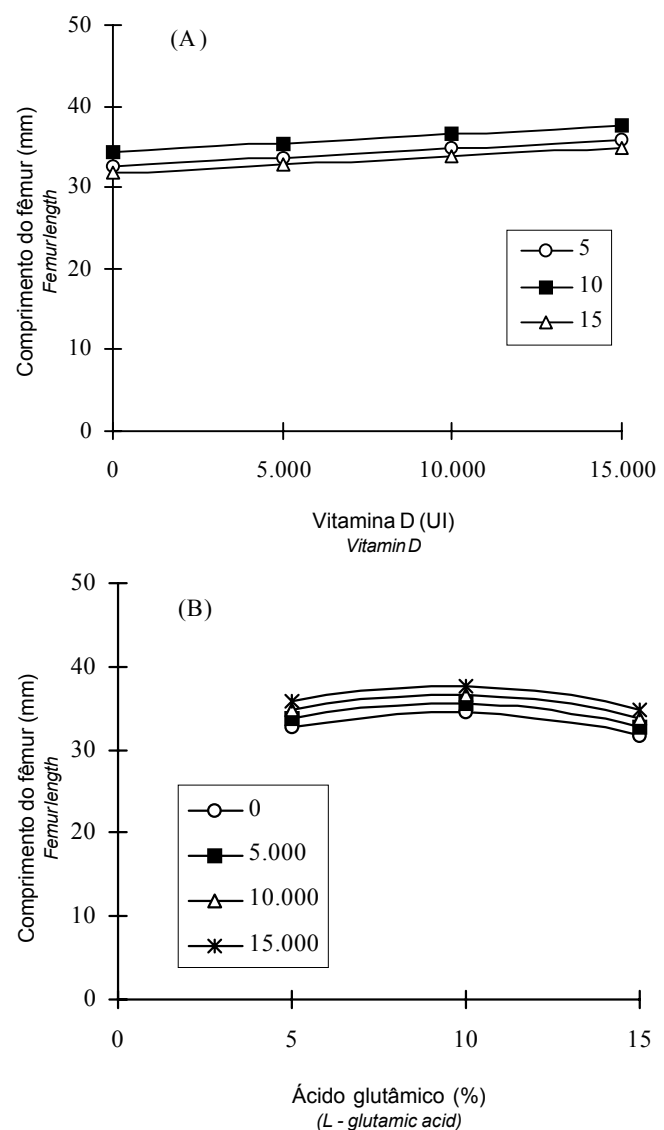


Figura 1 - Estimativa do comprimento do fêmur em função de níveis de vitamina D₃ (A) e de ácido L-glutâmico (L-Glu) (B).

Figure 1 - Estimate of femur length as a function of vitamin D₃ (A) and L-glutamic acid (L-Glu) (B) levels.

Tabela 2 - Comprimento, diâmetro e resistência do fêmur e do tibiotarso
 Table 2 - Femur and tibiotarsus length, diameter and breaking strength

Característica <i>Trait</i>	Vitamina D ₃ <i>Vitamin D₃</i> (UI) (IU)	Ácido L-glutâmico (%) <i>L-glutamic acid</i>			Média <i>Mean</i>
		5	10	15	
Comprimento do fêmur (mm) <i>Femur length</i>	0	32,68	34,13	32,00	32,94
	5000	33,75	35,63	32,25	33,88
	10.000	34,75	37,00	34,00	35,25
	15.000	35,75	37,25	35,00	36,00
Média <i>Mean</i>		34,23	36,00	33,31	
Comprimento do tibiotarso (mm) <i>Tibiotarsus length</i>	0	41,25	46,13	42,63	43,34
	5000	44,13	48,00	45,00	45,71
	10.000	46,00	48,25	45,75	46,67
	15.000	48,25	49,88	46,25	48,13
Média <i>Mean</i>		44,91	48,07	44,91	
Diâmetro do fêmur (mm) <i>Femur diameter</i>	0	3,00	3,50	3,00	3,17
	5000	3,00	3,63	3,00	3,21
	10.000	3,50	3,63	3,00	3,38
	15.000	3,83	3,50	2,75	3,36
Média <i>Mean</i>		3,33	3,57	2,94	
Diâmetro do tibiotarso (mm) <i>Tibiotarsus diameter</i>	0	3,00	3,33	3,00	3,11
	5000	3,13	3,33	3,00	3,15
	10.000	3,38	3,25	2,75	3,13
	15.000	3,88	3,13	2,63	3,21
Média <i>Mean</i>		3,35	3,26	2,85	
Resistência do fêmur (kgf/cm ²) <i>Femur breaking strength</i>	0	43,01	34,96	29,09	35,69
	5000	35,37	41,08	28,72	35,06
	10.000	38,17	53,12	34,04	41,78
	15.000	47,03	34,99	25,96	35,99
Média <i>Mean</i>		40,90	41,04	29,45	
Resistência do tibiotarso (kgf/cm ²) <i>Tibiotarsus breaking strength</i>	0	36,97	33,35	24,79	35,04
	5000	36,13	40,56	31,05	35,91
	10.000	39,31	42,97	30,74	37,67
	15.000	51,78	38,27	23,62	37,89
Média <i>Mean</i>		41,05	38,79	27,55	

Tabela 3 - Resumo da análise de variância de comprimento, diâmetro e resistência óssea
 Table 3 - Summary of variance analysis of length, diameter and breaking strength

Fonte de variação <i>Variation source</i>	Fêmur <i>Femur</i>			Tibiotarso <i>Tibiotarsus</i>		
	Comprimento <i>Length</i>	Diâmetro <i>Diameter</i>	Resistência <i>Breaking strength</i>	Comprimento <i>Length</i>	Diâmetro <i>Diameter</i>	Resistência <i>Breaking strength</i>
L-Glu	**	**	**	**	**	**
L-Glu						
Vitamina D ₃ <i>Vitamin D₃</i>	**	ns	**	**	ns	**
L-Glu x vitamina D ₃ <i>L-Glu x vitamin D₃</i>	ns	*	**	**	**	**
CV (%)	2,01	10,54	8,14	1,74	7,98	9,17

* Diferença significativa (P<0,05). (* Significant difference (P<.05).

** Diferença significativa (P<0,01). (** Significant difference (P<.01).

ns não-significativo (P>0,05) (ns Not significant (P>.05).

nitrogênio não-específico da dieta é fundamental para maximizar o desempenho, reduzir a incidência de problemas de pernas e favorecer o desenvolvimento e crescimento ósseo.

Nas Figuras 3 e 4, verifica-se que o diâmetro máximo estimado do fêmur foi de 3,57 mm, com 10,49% de L-Glu e 10.000 UI de VD, e de 3,17 mm com 11,04% de L-Glu e 15.000 UI de VD, para o tibiotarso.

Os pintos jovens necessitaram de altos níveis de VD para maximizar os parâmetros ósseos. Essas observações permitem sugerir que as aves de crescimento rápido não estão produzindo diidroxicolecalciferol a partir da VD suficientemente

rápido para absorver cálcio e, conseqüentemente, para permitir bom desenvolvimento ósseo.

Pintos alimentados com 10% de L-Glu, como fonte de nitrogênio não-específico apresentaram melhor desenvolvimento ósseo que aqueles alimentados com baixo nível de nitrogênio não-específico (5%), confirmando que o nível de nitrogênio não-específico de dietas purificadas é essencial para o desenvolvimento corporal das aves.

A resistência máxima estimada para o fêmur foi de 52,47 kgf/mm com 7,57% de L-Glu e de 8.978 UI de VD (Figura 5). Para o tibiotarso, a resistência máxima estimada foi de 43,35 kgf/mm obtida com

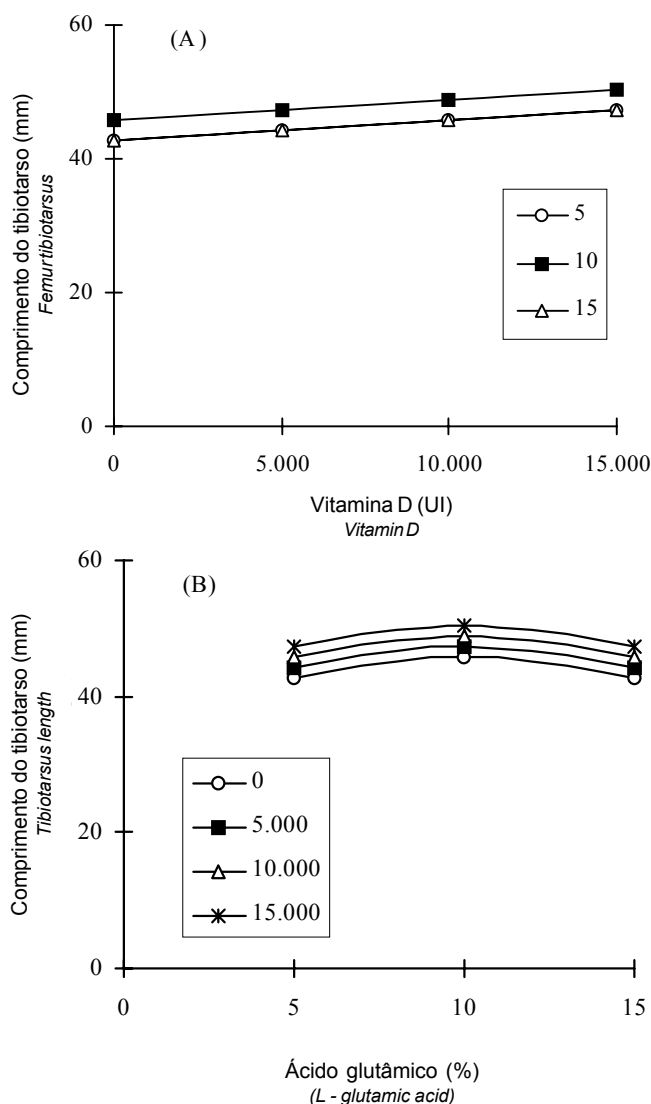


Figura 2 - Estimativa do comprimento do tibiotarso em função de níveis de vitamina D₃ (A) e de ácido L-glutâmico (L-Glu) (B).

Figure 2 - Estimate of tibiotarsus length as a function of vitamin D₃ (A) and L-glutamic acid (L-Glu)(B) levels.

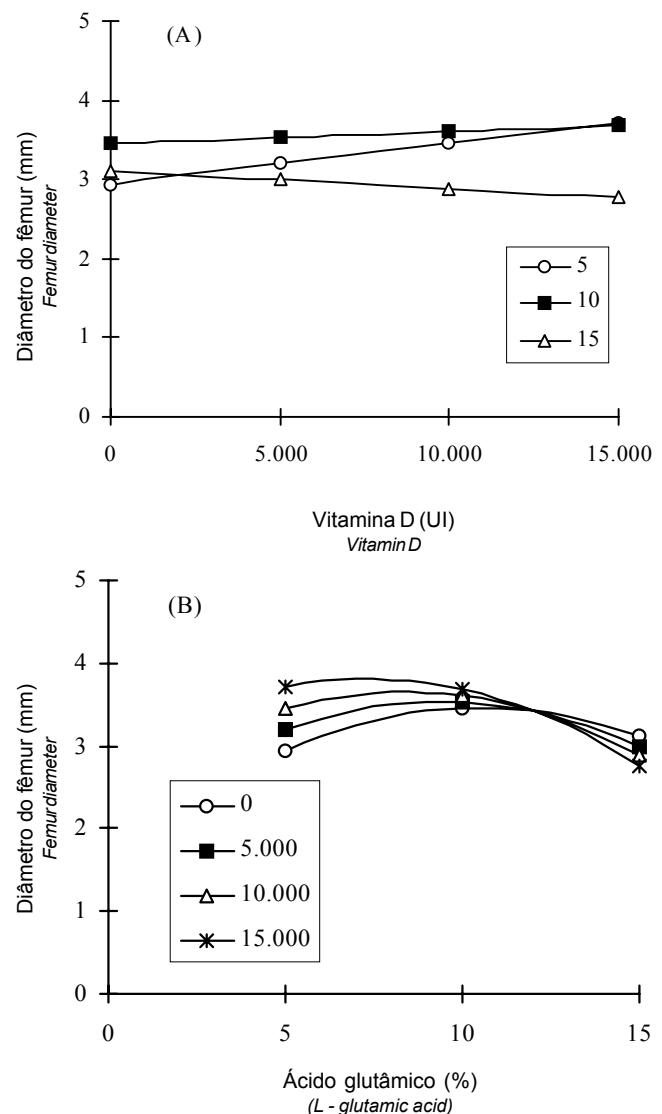


Figura 3 - Estimativa do diâmetro do fêmur em função de níveis de vitamina D₃ (A) e de ácido L-glutâmico (L-Glu) (B).

Figure 3 - Estimate of femur diameter as a function of vitamin D₃ (A) and L-glutamic acid (L-Glu) (B) levels.

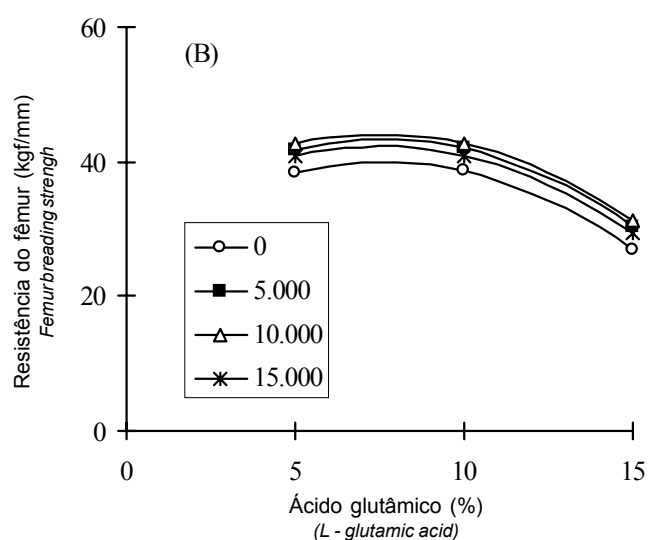
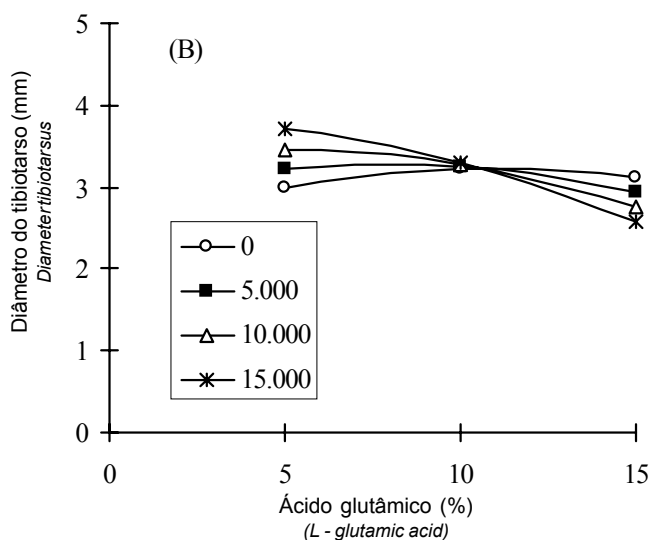
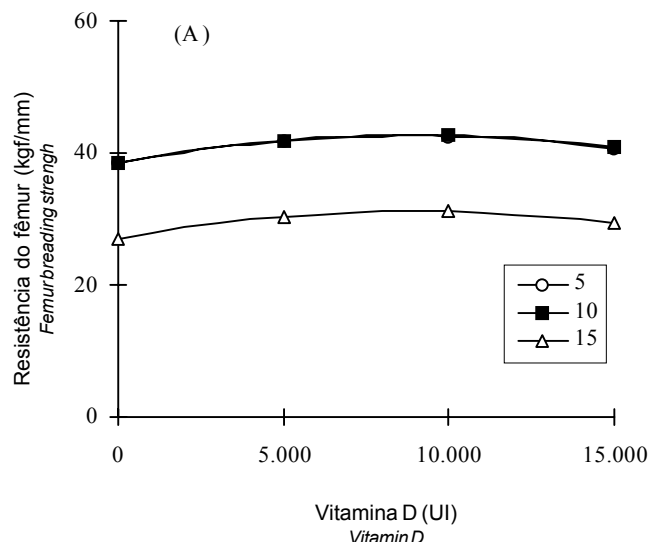
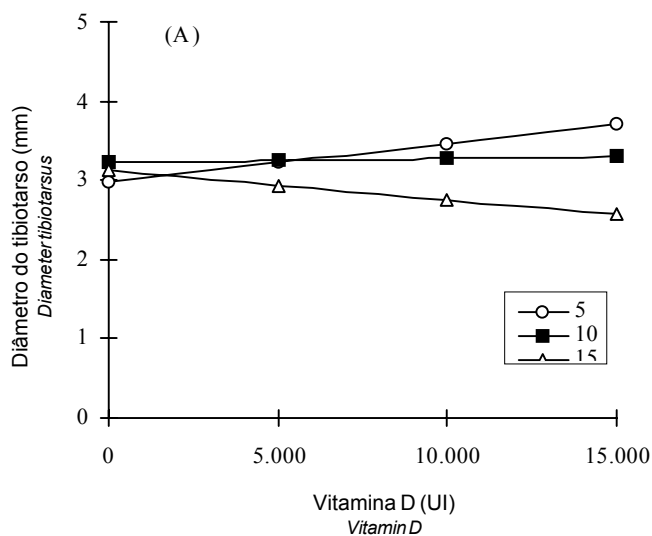


Figura 4 - Estimativa do diâmetro do tibiotarso em função de níveis de vitamina D₃ (A) e de ácido L-glutâmico (L-Glu) (B).

Figure 4 - Estimate of tibiotarsus diameter as a function of vitamin D₃ (A) and L-glutamic acid (L-Glu) (B) levels.

Figura 5 - Estimativa da resistência do fêmur em função de níveis de vitamina D₃ (A) e de ácido L-glutâmico (L-Glu) (B).

Figure 5 - Estimate of femur breaking strength as a function of vitamin D₃ (A) and L-glutamic (L-Glu) (B) levels.

6,24% de L-Glu e 12.591 UI de VD (Figura 6).

Somente com altos níveis de VD é que foi obtida a resistência máxima dos ossos. Estes resultados corroboram os obtidos por LOFTON e SOARES (1986), que verificaram redução na resistência dos tibiotarsos quando os frangos de corte foram alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja contendo baixos níveis de VD/kg de ração e aumento na resistência dos tibiotarsos com altos níveis de VD/kg de ração.

As aves de crescimento rápido apresentam discrepância entre o peso corporal e o comprimento do

tibiotarso, aparentemente como resultado do melhoramento genético para acúmulo de massa muscular. O peso corporal aumenta mesmo quando o crescimento longitudinal do tibiotarso cessa, o que leva, então, à redução na resistência do tibiotarso, que teria que suportar maior peso corporal e, conseqüentemente, aumentando a incidência de problemas de pernas.

Os principais efeitos significativos de tratamentos foram relacionados às concentrações de PNC nos ossos longos, conforme mostram as Tabelas 4 e 5. Maiores quantidades de PNC foram

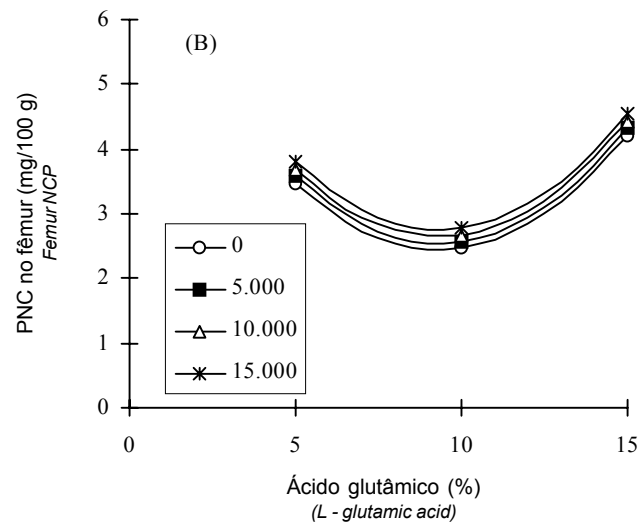
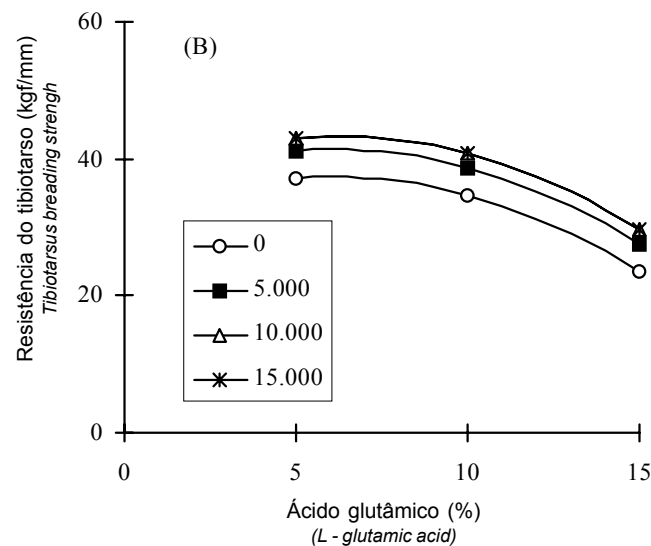
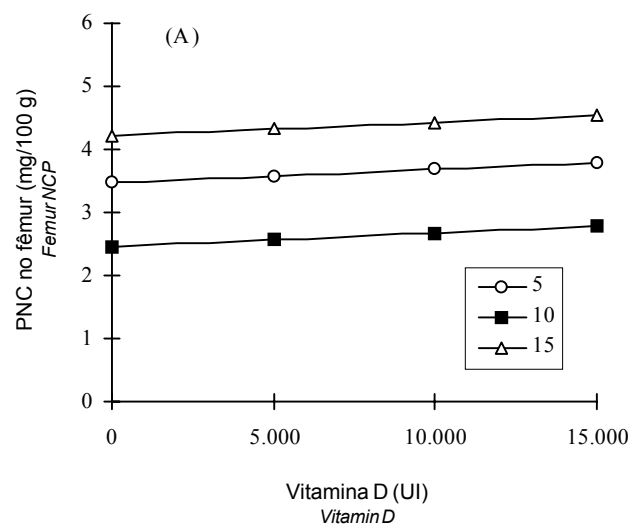
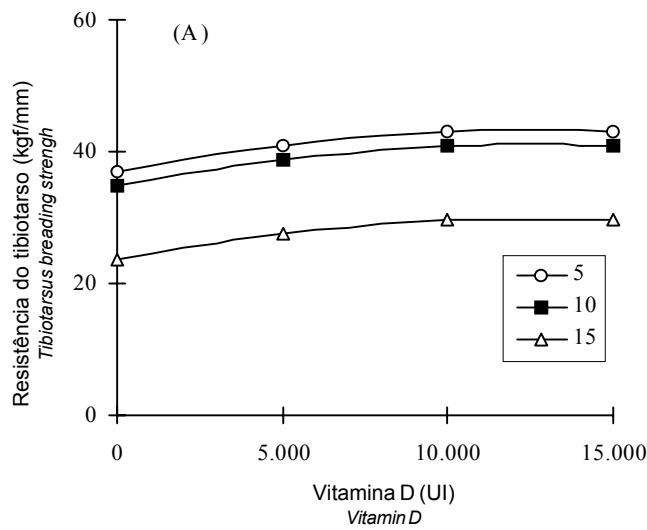


Figura 6 - Estimativa da resistência do tibiatarso em função de níveis de vitamina D₃ (A) e de ácido L-glutâmico (L-Glu) (B).

Figure 6 - Estimate of tibiatarso breaking strength as a function of vitamin D₃ (A) and L-glutamic acid (L-Glu) levels.

Figura 7 - Estimativa da concentração de proteína não-colagenosa no fêmur em função de níveis de vitamina D (A) e de ácido L-glutâmico (L-Glu) (B).

Figure 7 - Estimate of femur non-collagenous protein in function of vitamin D (A) and L-glutamic acid (L-Glu) levels.

extraídas pelo EDTA das diáfises das aves alimentadas com nível protéico subótimo (5% de L-Glu) em comparação com as aves que receberam suprimento protéico adequado (10% de L-Glu). Essas diferenças podem estar indicando alterações na formação do tecido ósseo, evidenciando dessa maneira resultados coincidentes com o exame histológico.

Não foi observado efeito de tratamento ($P > 0,05$) nas concentrações de PC no fêmur (Tabela 5), que foi constante e igual a 23,44 mg/100 g, corroborando o verificado por RIBEIRO et al. (1995b), os quais

observaram que o aumento do nível de L-Glu ou de L-Ala das dietas não promoveu diferença nas concentrações de proteínas colagenosas nos fêmures dos pintinhos. No tibiatarso, a maior concentração estimada de PC foi de 26,42 mg/100 g, obtida com 15% de L-Glu.

As mais baixas concentrações de PNC nos fêmures (2,54 mg/100 g) foram obtidas com 9,32% de L-Glu (Figura 7). Com a suplementação de 5% (3,79 mg/100 g) e 15% (4,53 mg/100 g) de L-Glu foram observadas as mais altas concentrações de PNC,

Tabela 4 - Proteínas colagenosas (PC), proteínas não-colagenosas (PNC) e proteínas totais (PT) no fêmur e tibiotarso
 Table 4 - Collagenous proteins (CP), non-collagenous proteins (NCP) and total proteins (TP) on femur and tibiotarsus

Característica <i>Trait</i>	Vitamina D ₃ <i>Vitamin D₃</i> UI (IU)	Ácido L-glutâmico (%) <i>L-glutamic acid</i>			Média <i>Mean</i>
		5	10	15	
		Proteína colagenosa no fêmur (mg/100 g) <i>Femur collagenous protein</i>	0 5.000 10.000 15.000	22,04 25,29 21,56 22,29	
Média <i>Mean</i>		22,80	23,20	24,31	
Proteína colagenosa no tibiotarso (mg/100 g) <i>Tibiotarsus Collagenous protein</i>	0 5.000 10.000 15.000	25,86 26,78 22,76 22,21	24,00 23,17 22,51 25,51	26,05 25,41 22,46 22,39	25,30 25,12 22,58 23,37
Média <i>Mean</i>		24,40	23,80	24,08	
Proteína não-colagenosa no fêmur (mg/100 g) <i>Femur non-collagenous protein</i>	0 5.000 10.000 15.000	3,38 3,51 3,72 3,92	2,72 2,78 2,65 2,35	4,37 3,71 4,44 4,99	3,49 3,33 3,60 3,75
Média <i>Mean</i>		3,63	2,63	4,38	
Proteína não-colagenosa no tibiotarso (mg/100 g) <i>Tibiotarsus non-collagenous protein</i>	0 5.000 10.000 15.000	1,50 3,26 3,28 3,97	3,46 2,42 2,52 2,68	2,71 3,71 3,76 3,84	3,13 3,19 3,50
Média <i>Mean</i>		3,42	2,28	3,69	
Proteína total no fêmur (mg/100g) <i>Femur total protein</i>	0 5.000 10.000 15.000	25,42 28,81 25,27 26,21	26,24 25,92 25,86 25,26	29,49 28,23 30,04 26,97	27,05 27,65 27,06 26,15
Média <i>Mean</i>		26,43	25,82	28,68	
Proteína total no tibiotarso (mg/100 g) <i>Tibiotarsus total protein</i>	0 5.000 10.000 15.000	29,03 30,03 26,04 26,18	25,50 25,59 25,03 28,20	29,51 29,12 26,22 26,23	28,01 28,25 25,76 26,87
Média <i>Mean</i>			27,82	26,08	27,77

Tabela 5 - Resumo da análise de variância das concentrações de proteínas ósseas
 Table 5 - Summary of the analysis of variance of bone protein contents

Fonte de variação <i>Variation source</i>	Fêmur <i>Femur</i>			Tibiotarso <i>Tibiotarsus</i>		
	PC ¹ <i>CP¹</i>	PNC ² <i>NCP²</i>	PT ³ <i>TP³</i>	PC ¹ <i>CP¹</i>	PNC ² <i>NCP²</i>	PT ³ <i>TP³</i>
L-Glu <i>L-Glu</i>	ns	**	**	ns	**	**
Vitamina D ₃ <i>Vitamin D₃</i>	ns	*	ns	**	**	**
L-Glu x vitamina D ₃ <i>L-Glu x vitamin D₃</i>	ns	**	ns	**	*	**
CV	8,92	9,08	6,97	5,74	10,17	4,56

¹ Proteína colagenosa (*Collagenous protein*), ² Proteína não-colagenosa (*Non-collagenous protein*), ³ Proteína total (*Total protein*).

* Diferença significativa. (*Significant difference*) ($P < 0,05$), **Diferença significativa. (*Significant difference*) ($P < 0,01$).

ns não-significativo ($P > 0,05$) (*Not significant*) ($P > 0,05$).

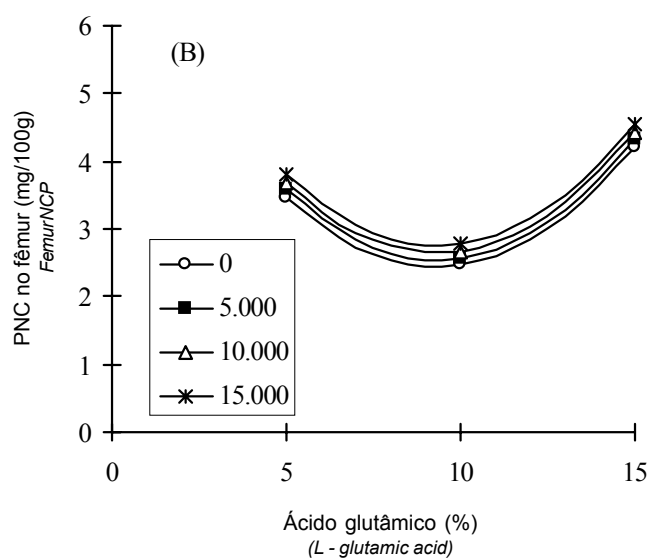
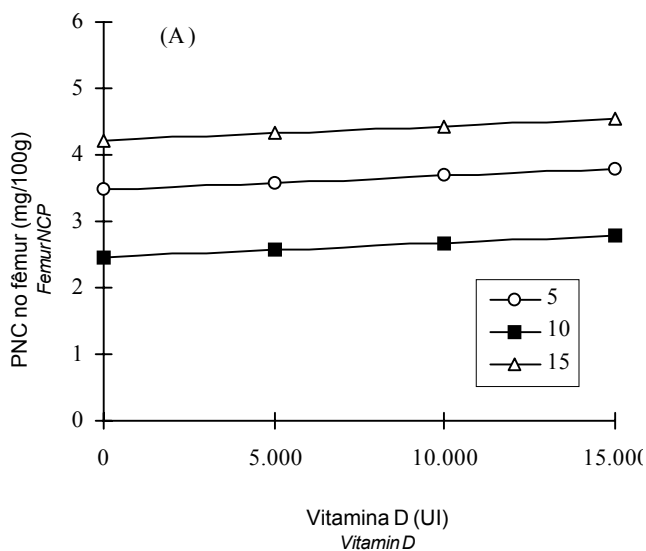


Figura 7 - Estimativa da concentração de proteína não-colagenosa no fêmur em função de níveis de vitamina D (A) e de ácido L-glutâmico (L-Glu) (B).
 Figure 7 - Estimate of femur non-collagenous protein in function of vitamin D (A) and L-glutamic acid (L-Glu) (B) levels.

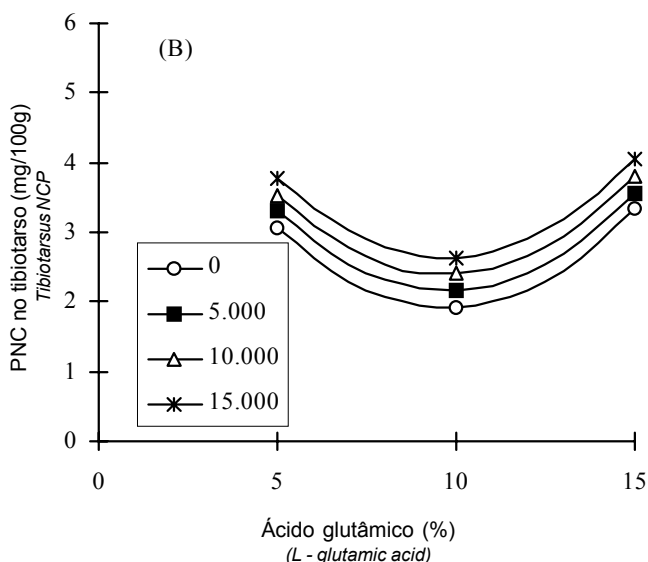
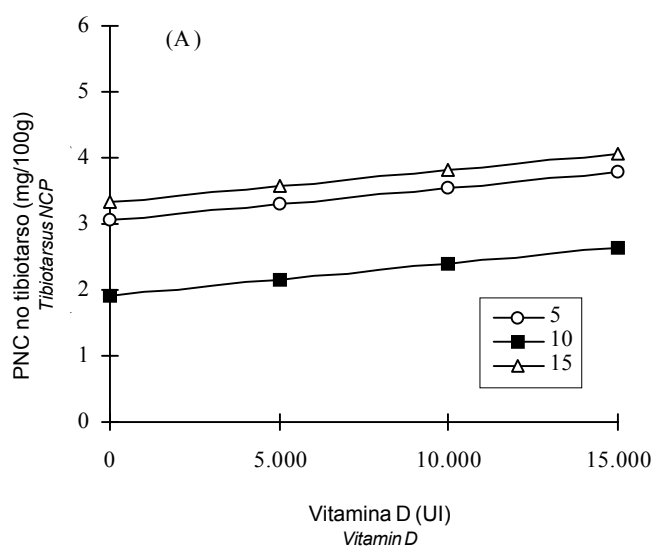


Figura 8 - Estimativa da concentração de proteína não-colagenosa no tibiotarso em função de níveis de vitamina D₃ (A) e de ácido L-glutâmico (L-Glu) (B).
 Figure 8 - Estimate of non collagenous protein on tibiotarsus in function of vitamin D₃ (A) and L-glutamic acid (L-Glu) (B) levels.

coincidentes com o pior desempenho, o aumento na incidência de problemas de pernas (SILVA et al., 2001, no prelo) e a redução na resistência óssea com 15% de L-Glu.

Esses resultados são confirmados por RIBEIRO et al. (1995a) e GUIMARÃES et al. (1996), os quais verificaram que as anomalias de pernas causadas pela deficiência de nitrogênio não-específico podem estar associadas às altas concentrações de PNC dos ossos das pernas de pintos de corte.

Nos tibiotarsos, as menores concentrações de

PNC (2,15 mg/100 g) foram obtidas com nível estimado de 9,73% de L-Glu (Figura 8), coincidentes com o melhoria no desempenho e na redução dos problemas de pernas (SILVA et al., 2001).

No fêmur, obteve-se maior concentração média de proteína total (30,04 mg/100 g) com 15% de L-Glu e 10.000 UI de VD; no tibiotarso, a maior concentração (30,03 mg/100 g) foi obtida com 5% de L-Glu e 5.000 UI de VD.

As concentrações das frações solúveis (PNC) e insolúveis em EDTA (PC) refletiram os níveis de

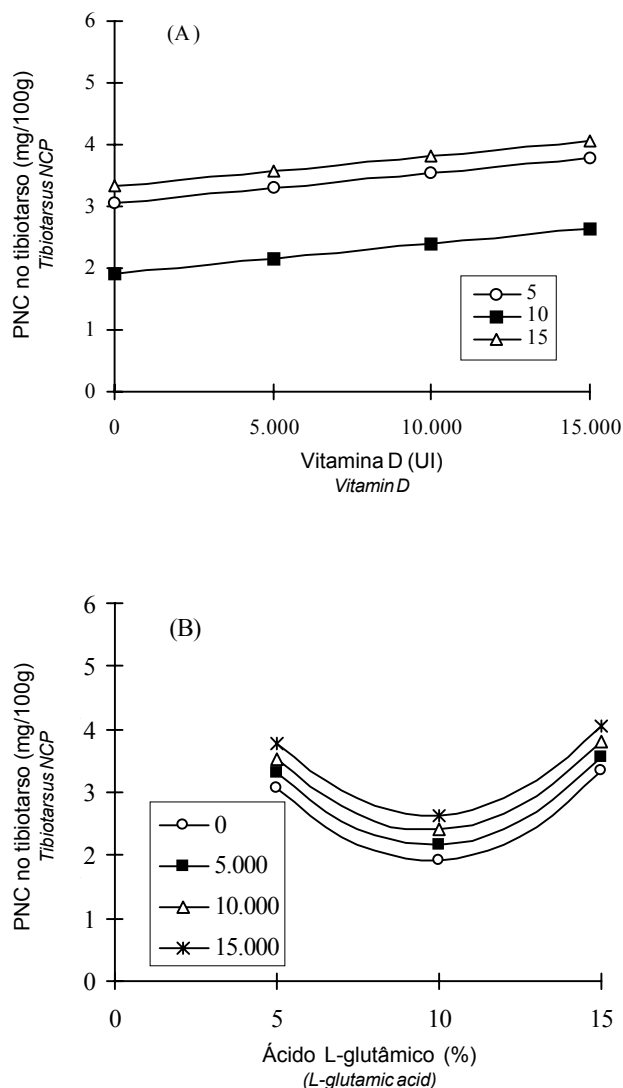


Figura 8 - Estimativa da concentração de proteína não-colagenosa no tibiotarso em função de níveis de vitamina D₃ (A) e de ácido L-glutâmico (L-Glu) (B).
 Figure 8 - Estimate of non collagenous protein on tibiotarsus in function of vitamin D₃ (A) and L-glutamic acid (L-Glu) (B) levels.

aminoácidos e, conseqüentemente, as proteínas contidas nas dietas experimentais. Essas observações preliminares indicam que são bastante promissoras os estudos envolvendo diferentes níveis de aminoácidos e proteínas nas rações de aves e seus efeitos sobre a fração orgânica dos ossos desses animais, devendo ser complementados de maneira mais minuciosa.

Conclusões

O nitrogênio não-específico fornecido como L-Glu, em nível de 10% em dietas purificadas e 15.000 UI de vitamina D³, permitiu melhor desenvolvimento e crescimento dos ossos das pernas de pintos de corte e redução na incidência de problemas de pernas.

A suplementação das dietas com 10% de L-Glu, como fonte de nitrogênio não-específico, reduziu as concentrações de proteínas não-colagenosas do fêmur e tibiotarso, as quais estão diretamente relacionadas com o melhor desempenho e a menor incidência de problemas de pernas em pintos de corte que receberam dietas purificadas.

Essas observações preliminares indicam que são bastante promissoras os estudos envolvendo diferentes níveis de proteínas e aminoácidos nas rações de aves e seus efeitos sobre a fração orgânica desses animais.

Referências Bibliográficas

- ANDERSON, J.J.B., TOVERUD, S.U. 1994. Diet and vitamin D: a review an emphasis on human function. *J. Nutr. Biochem.*, 5(2):58-65.
- BRADFORD, M.A. 1976. Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 72(1):248-254.
- CORNÉLIO, L.R. *Efeitos do ácido L-glutâmico e da relação cálcio e fósforo no desempenho e anormalidades de pernas de pintos de corte*. Viçosa, MG, UFV, 1995. 54p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1995.
- EDWARDS, H.M., VELTMAN, J.R. 1983. The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyschondroplasia in young chicks. *J. Nutr.*, 113(8):1568-1575.
- FEATHERSTON, W.R. 1976. Adequacy of glutamic acid synthesis by chick for maximal growth. *Poult. Sci.*, 53(6):680-686.
- GAY, C.V., GILMAN, V.R., SUGIYAMA, T. 2000. Perspectives on osteoblast and osteoclast function. *Poult. Sci.*, 79(7):1005-1008.
- GUIMARÃES, V.M. *Efeitos de aminoácidos dispensáveis e indispensáveis no desempenho e anomalias das pernas de pintos de corte*. Viçosa, MG, 1998. 54p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1988.
- GUIMARÃES, V.M., MORAES, G.H.K., FONSECA, J.B. et al. 1996. Efeitos de aminoácidos não essenciais da dieta sobre glutamato-oxaloacetato transaminase hepática e composição química parcial de tíbias e fêmures de pintos de corte. *R. Soc. Bras. Zootec.*, 25(3):481-493.
- HAUSCHKA, P.V. 1985. Osteocalcin and its functional domains. IN: BUTLER, W.T. *The Chemistry and Biology of Mineralized Tissues*. EBSCO Media. p.149-158.
- HEDSTROM, O.R., CHEVILLE, N.F., HORST, R.L. 1986. Pathology of vitamin D deficiency in growing turkeys. *Vet. Path.*, 23(4):485-498.

- LOFTON, J.T., SOARES JR., J.H. 1986. The effects of vitamin D₃ on leg abnormalities in broilers. *Poult. Sci.*, 65(5):749-756.
- MARUYAMA, K., SUNDE, M.L., HARPER, A.E. 1976. Is L-Glutamic acid nutritionally a dispensable amino acid for the young chick? *Poult. Sci.*, 55(1):45-60.
- MORAES, G.H.K., ROGLER, J.C., FEATHERSTON, W.R. 1987. Effects of D-amino acids on growth rate and kidney D-amino acid oxidase in chicks. *Poult. Sci.*, 66(1):98-102.
- NORMAN, A.W., HURWITZ, S. 1993. The role of vitamin D endocrine system in avian bone biology. *J. Nutr.*, 123(2):310-316.
- PERINI, D.T. *Efeitos do ácido L-glutâmico e da vitamina D₃ no desempenho e anormalidades das pernas de pintos de corte*. Viçosa, MG, UFV, 1993. 94p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1993.
- PERRY, R.W., ROWLAND, G.N., BRITTON, W.M. 1991. Pathology of experimental vitamin D deficiency in turkeys and the effects of various vitamin D supplements. *Avian Dis.*, 35:542-553.
- RATH, N.C., HUFF, G.R., HUFF, W.E. et al. 2000. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. *Poult. Sci.*, 79(7):1024-1032.
- RIBEIRO, M., MORAES, G.H.K., FONSECA, J.B. 1995a. Efeitos de ácido L-Glutâmico, L-Alanina e L-Prolina da dieta em pintos de corte: I - Desempenho, incidência de problemas de pernas e composição química de fêmures. *R. Soc. Bras. Zootec.*, 24(5):768-777.
- RIBEIRO, M., MORAES, G.H.K., SANT'ANNA, R. et al. 1995b. Efeitos de ácido L-glutâmico, L-alanina e L-prolina da dieta em pintos de corte: II - Glutamato desidrogenase (GDH) hepática, aminoácidos e ácido úrico séricos. *R. Soc. Bras. Zootec.*, 24(5):778-787.
- RODRIGUES, A.C.P., MORAES, G.H.K. de. 1995. Efeitos de ácido L-glutâmico e de vitamina K da dieta no desempenho e nas anomalias das pernas de pintos de corte. *R. Ceres*, 42(248):270-278.
- RODRIGUES, A.C.P., MORAES, G.H.K., ROSTAGNO, H.S. et al. 1996. Efeitos do ácido L-Glutâmico e da vitamina K no comprimento e na composição química parcial de tíbias e fêmures de pintos de corte. *R. Ceres*, 43(249):567-580.
- SILVA, F.A., MORAES, G.H.K. Effects of L-glutamic on growth and partial chemical composition of tibia and femur of chicks. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR, 1995, Caxambu, MG, 1995. *Anais ...* São Paulo: SBBQ, 1995. p.51.
- SILVA, F.A., MORAES, G.H.K., RODRIGUES, A.C.P. et al. 2001. Efeitos do ácido L-glutâmico e da vitamina D₃ no desempenho e nas anomalias ósseas de pintos de corte. *Rev. bras. zootec.*, 30(6):2059-2066.

Recebido em: 15/06/00

Aceito em: 02/07/01