

## Variação aniônica da dieta sobre características ósseas de frangos de corte: resistência à quebra, composição orgânica e mineral

[*Diet anionic variation in the broiler chick bone: breaking force resistance, organic and mineral composition*]

G.M. Araújo, F.M. Vieites, A.A. Barbosa, J.G. Caramori Junior, A.L. Santos, G.H.K. Moraes, J.G. Abreu, E.S. Muller

FAMEV/UFMT  
Av. Fernando Correia da Costa s/n, Coxipó  
78060-900 - Cuiabá, MT

### RESUMO

Avaliou-se a composição química e a resistência óssea do tibiotarso de frangos de corte aos 21 dias de idade. Foram determinados os percentuais ósseos de proteínas colagenosas (PC) e proteínas não colagenosas (PNC) e de cálcio, fósforo, potássio e sódio. Foram utilizados 650 pintinhos machos de marca comercial, alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja. Foi utilizado delineamento em blocos ao acaso com cinco repetições e 26 aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram na suplementação da dieta basal com  $\text{NH}_4\text{Cl}$  a fim de se obter cinco níveis -50; 0; 50; 100 e 150mEq/kg de balanço eletrolítico (BE). O nível de BE influenciou os teores de fósforo, potássio, sódio, PC e PNC, relação Ca:P e a resistência à quebra. A redução do balanço eletrolítico da dieta em nível inferior a 150mEq/kg influenciará negativamente a mineralização e a resistência óssea. A resistência à quebra do tibiotarso não está correlacionada com as concentrações dos minerais de forma individual, mas correlaciona-se negativamente com as concentrações de proteínas colagenosas e não colagenosas.

Palavras-chave: frango de corte, acidose metabólica, balanço eletrolítico, tibiotarso

### ABSTRACT

*This study was carried out in order to evaluate the bone chemical composition and breaking force resistance of tibiotarsus birds at 21 days of age. The bone percentage of collagenous proteins (CP), non collagenous proteins (NCP) and minerals (calcium, phosphorus, potassium and sodium) was analyzed. A total of 650 commercial male broiler chicks were fed corn and soybean diets. A completely randomized block design with five replications of 26 birds per experimental unit was used. The treatments consisted of the basal ration supplemented with  $\text{NH}_4\text{Cl}$  in order to obtain five levels (-50; 0; 50; 100 and 150mEq/kg) of electrolyte balance. The EB level affected the percentages of phosphorus, potassium and sodium, PC and PNC, Ca: P relation and breaking force resistance. The reduction of EB diets at levels below 150mEq/kg will affect negatively the mineralization and bone resistance. The breaking force of tibiotarsus is not correlated with the mineral concentration individually, but correlates negatively with the concentration of collagenous and non-collagenous proteins.*

Keywords: broilers, metabolic acidosis, electrolyte balance, tibiotarsus

### INTRODUÇÃO

Os problemas no esqueleto de frangos de corte moderno, primariamente, estão associados com o rápido crescimento dos ossos longo, tanto

longitudinal como em circunferência, problemas que despertam interesse por envolver o bem-estar animal e perdas econômicas (Williams *et al.*, 2004). A biologia do esqueleto vem sendo objeto de pesquisa há vários anos, principalmente

devido a sua influência na saúde e bem estar animal, associado à importância para o crescimento dos frangos de corte de linhagens selecionadas para a indústria alimentícia (Knott e Bailey, 1999).

O osso é constituído, aproximadamente, por 70% de minerais, 20% de matriz orgânica e cerca de 10% de água, o que o diferencia de outros tecidos conjuntivos menos rígidos. A parte inorgânica constitui, aproximadamente 60 a 70% do peso do osso e é responsável pelas propriedades de rigidez e resistência à compressão (Rath *et al.*, 2000). Os íons mais encontrados na matriz mineral ou inorgânica são o fosfato e o cálcio, na forma de cristais de hidroxiapatita. Além da hidroxiapatita, que compõe 80% da fase mineral, outros minerais também são encontrados, como o carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>), 13%, e o fosfato de magnésio (Mg(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>), 2% (Field, 2000).

A matriz orgânica tem como componente predominante o colágeno tipo I (proteína), que representa 80 a 90% dessa matriz e participa no processo de mineralização óssea, contribuindo para a resistência à tração do osso (Rath *et al.*, 2000). Os outros 10 a 20% correspondem à substância amorfa, que compreende os proteoglicanos, lipídios e proteínas não colagenosas (PNC) (Banks, 1991; Rath *et al.*, 2000). As PNC contribuem para uma variedade de funções no osso, como estabilização da matriz, calcificação e outras atividades regulatórias do metabolismo (Rath *et al.*, 2000). As mais abundantes do osso são a osteonectina e a osteocalcina ou Gla proteína. A osteonectina parece atuar como regulador negativo do crescimento do cristal do osso (Roach, 1994). A osteocalcina está envolvida no processo de mineralização do osso, prevenindo a mineralização excessiva (Young, 2003).

Distúrbios ácido-básico crônicos afetam o metabolismo ósseo (Patience, 1990), consequentemente, pesquisas têm investigado a ligação entre os níveis de eletrólitos e a integridade do esqueleto. Até agora se sabe que o balanço eletrolítico pode influenciar a incidência de discondroplasia tibial (Sauveur, 1984). Existem evidências de que a acidose metabólica produzida por altos níveis de cloro pode reduzir a

formação da 1,25-diidroxicolecalciferol vitamina D<sub>3</sub>, que é essencial para a normal mineralização óssea (Mongin e Sauveur, 1977).

Este estudo teve o objetivo de avaliar a influência do balanço eletrolítico (BE) da dieta sobre os teores de proteína colagenosa e proteínas não colagenosas, sobre a resistência à quebra, e sobre a composição mineral de tibiotarso de frangos de corte ao final da fase inicial de criação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Avaliaram-se a composição química e a resistência óssea do tibiotarso de frangos de corte aos 21 dias de idade, e foram determinados os teores de PC e PNC, e dos minerais cálcio, fósforo, potássio e sódio.

Os tibiotarsos foram obtidos a partir de outro experimento. Utilizaram-se 650 pintos de corte, machos, da marca comercial Cobb. As aves foram criadas de um até 21 dias de idade em galpão de alvenaria, em 25 boxes de 3,2x1,46m (4,67m<sup>2</sup>). Utilizou-se delineamento experimental de blocos ao acaso, com cinco tratamentos – -50; 0; 50; 100 e 150mEq/kg –, cinco repetições e 26 aves por unidade experimental. A distribuição em blocos ocorreu em razão de o ensaio de desempenho ter sido realizado em bloco. Durante o período experimental, foi adotado programa de luz contínuo – 24 horas de luz natural + artificial. Registraram-se médias de 30 e 23°C das temperaturas máxima e mínima, respectivamente, e média da umidade relativa do ar de 67%.

A ração basal foi constituída de milho e farelo de soja, de forma a atender às recomendações nutricionais segundo Rostagno *et al.* (2000), para a fase inicial de 1 a 21 dias, com balanço eletrolítico de 150mEq/kg (Tab. 1). Os animais foram distribuídos nos boxes com um dia de idade e média de peso de 47g. Cada ração basal foi suplementada com cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl), em substituição ao material inerte, de forma a obter cinco níveis de BE (Tab. 2). Os valores de BE foram calculados de acordo com Mongin (1981).

Tabela 1. Composição calculada da dieta experimental

Ingrediente (%)	Ração inicial
Milho	54,516
Farelo de soja	36,179
Óleo de soja	3,724
Calcário	0,977
Fosfato bicálcico	1,825
DL-metionina (99%)	0,230
L-lisina HCl (98%)	0,153
Sal comum	0,456
Carbonato de potássio	-
Cloreto de amônia	0,269
Cloreto colina (60%)	0,080
Mistura vitamínica <sup>1</sup>	0,100
Mistura mineral <sup>2</sup>	0,050
Virginamicina <sup>3</sup>	0,050
Anticoccidiano <sup>4</sup>	0,050
Antioxidante <sup>5</sup>	0,010
Areia lavada (inerte)	1,331
<b>Total</b>	<b>100,00</b>
<b>Nível nutricional (%)</b>	
Energia metabolizável (kcal/kg)	3.000
Proteína bruta	21,40
Cálcio	0,960
Fósforo disponível	0,450
Sódio	0,222
Potássio	0,829
Cloro	0,386
Arginina digestível	1,336
Glicina + serina	2,024
Metionina + cistina digestível	0,807
Lisina digestível	1,143
Treonina digestível	0,717
Triptofano digestível	0,242
Balanço eletrolítico mEq/kg (mEq/kg)	150

Suplementação de vitaminas, minerais e aditivos/kg do produto <sup>1</sup>vitamina A – 10.000.000 UI; vitamina D3 – 2.000.000 UI; Vitamina E – 30.000UI; Vitamina B1 – 2,0g; Vitamina B6 – 4,0g; Ác. Pantotênico – 12,0g; Biotina – 0,10g; Vitamina K3 – 3,0g; Ácido fólico – 1,0g; Ácido nicotínico – 50,0g; Vitamina B12 – 15.000mcg; Selênio – 0,25g; e Veículo q.s.p. – 1.000g. <sup>2</sup>Roligomix (Roche). Níveis de garantia por quilo de produto: Manganês 16,0g; Ferro – 100,0g; Zinco – 100,0g; Cobre – 20,0g; Cobalto – 2,0g; Iodo – 2,0g; e Veículo q.s.p. – 1.000g. <sup>3</sup>Stafac® – 50%; <sup>4</sup>Coxistac® (Salinomicina) – 12%; <sup>5</sup>Hidroxitolueno.

Tabela 2. Dietas experimentais – inicial – suplementadas com NH<sub>4</sub>Cl

BE mEq/kg	Ração Basal (kg)	Inerte (%)	NH <sub>4</sub> Cl (%)	Total (%)
- 50	98,4	0,255	1,345	100
0	98,4	0,524	1,076	100
50	98,4	0,793	0,807	100
100	98,4	1,062	0,538	100
150	98,4	1,331	0,269	100

NH<sub>4</sub>Cl – peso molecular (UMA) = 53,45; pureza 99,5 %; BE: balanço eletrolítico.

Aos 21 dias de idade, uma ave de cada unidade experimental com o peso médio foi sacrificada por deslocamento cervical. Retiraram-se os tibiotarsos que foram limpos de todo tecido aderente, identificados e congelados à temperatura de -5 °C.

O tibiotarso direito de cada ave foi utilizado para determinação das concentrações dos minerais. Depois de descongelados e secos à estufa a 105°C por seis horas, eles foram desengordurados com hexano em aparelho de Soxhlet por quatro horas. Posteriormente determinaram-se o peso seco, desengordurado, a porcentagem de cinza e a solução mineral, seguindo o método proposto por Silva e Queiroz (2002).

Após a obtenção da solução mineral, os teores de cálcio, potássio e de sódio foram obtidos por espectrofotometria de emissão óptica com fonte de Plasma indutivamente acoplado (ICP-OES), utilizando-se o espectrômetro simultâneo Perkin Elmer (Optima 3300 DV). O percentual de fósforo do tibiotarso foi determinado por colorimetria, utilizando-se o aparelho, um autoanalisador paramétrico (Alizeé) e quite da Synermed.

O tibiotarso esquerdo de cada ave foi utilizado para determinação da resistência óssea e dos teores de PC e PNC. Eles foram descongelados até atingirem a temperatura ambiente e, posteriormente, submetidos a um ensaio de flexão, com o uso de uma máquina universal de ensaios mecânicos INSTRON- modelo 4204. Todos foram testados na mesma posição, com suas extremidades apoiadas em dois suportes apropriadamente afastados de acordo com seu comprimento, e a carga foi aplicada no centro – região da diáfise do osso – a uma velocidade constante de 10 mm/min. O momento da ruptura da força foi registrado em Newton (N/mm).

Após a determinação da resistência óssea, os tibiotarsos foram cortados longitudinalmente, removeu-se a medula óssea com jatos de água destilada e deionizada. A seguir, foram desengordurados com éter de petróleo em aparelho de Soxhlet por 12 horas, para determinação das concentrações de PNC e PC de

acordo com método proposto por Hauschka e Gallop (1977), para a extração de PNC, e a sua quantificação pelo método de Bradford (1976), utilizando albumina sérica bovina como padrão. Depois de desengordurados e desmineralizados, os ossos foram lavados com água destilada e deionizada e, então, usados para determinação do teor de PC, utilizando-se o método de Berthelot, modificado por Pezemk e Nielsen, citado por Guimarães (1988). O teor de PC foi obtido multiplicando-se o teor de nitrogênio pelo fator 6,25.

As porcentagens de PC e PNC foram calculadas em relação ao peso do osso seco, desengordurado. Os valores dos minerais foram expressos em porcentagem do peso das cinzas, e a relação cálcio: fósforo foi obtida dividindo-se a porcentagem de cálcio pela de fósforo nas cinzas.

Os dados foram analisados utilizando-se o programa SAEG e foram submetidos à análise de variância e de regressão conforme recomendação de Bonzato e Kronka (1992).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados referentes às características avaliadas encontram-se na Tab. 3. Os níveis de BE não influenciaram o teor de cinzas e a concentração de cálcio, entretanto influenciaram as características resistência à quebra, teores de fósforo, de potássio e de sódio, relação Ca:P, PC e PNC.

Observou-se que a redução do balanço eletrolítico não influenciou o percentual de cinzas e de cálcio no presente estudo. É bem provável que os mecanismos de regulação do cálcio sejam mais ativos do que os demais minerais, objetivando manter sua homeostase em condições de adversidade, haja vista o seu maior requerimento. Field (2000) destaca que o cálcio é o mineral de maior participação nas cinzas do tibiotarso, correspondendo a até 37% dos minerais na cinza. Nesse sentido, variação na sua concentração irá influenciar a concentração de cinzas, fato observado neste estudo.

Tabela 3. Características ósseas de frangos de corte aos 21 dias de idade segundo o nível de balanço eletrolítico

Característica	Níveis de BE - mEq/kg					Média	Efeito	CV
	-50	0	50	100	150			
Cinzas, %	40,07	37,97	39,41	39,76	40,51	39,54	NS	3,46
Cálcio, %	26,32	31,44	28,31	29,99	28,28	28,87	NS	16,75
Fósforo, %	22,47	17,46	17,92	15,44	17,66	18,19	Q**	10,87
	Equação: $\hat{Y} = 18,5313 - 0,056187X + 0,000328978X^2$ ; $R^2 = 0,86$							
Potássio, %	1,98	2,52	2,68	2,49	2,50	2,43	Q**	11,34
	Equação: $\hat{Y} = 2,43291 + 0,00608478X - 0,0000406056X^2$ ; $R^2 = 0,87$							
Sódio, %	0,66	0,64	1,49	1,29	0,83	0,98	Q**	27,39
	Equação: $\hat{Y} = 1,01825 + 0,00752974X - 0,0000551649X^2$ ; $R^2 = 0,61$							
Relação Ca:P	1,64	2,07	1,78	2,23	1,72	1,89	Q**	10,13
	Equação: $\hat{Y} = 1,93708 + 0,00388303X - 0,0000323523X^2$ ; $R^2 = 0,41$							
Resistência à quebra, (N)	13,73	16,69	22,72	19,73	22,68	19,11	Q*	11,94
	Equação: $\hat{Y} = 17,6598 + 0,0677212X - 0,000258172X^2$ ; $R^2 = 0,82$							
PC, %	40,34	34,90	30,33	33,03	31,64	34,05	Q**	7,29
	Equação: $\hat{Y} = 34,8745 - 0,0824737X + 0,000439312X^2$ ; $R^2 = 0,89$							
PNC, %	0,73	0,62	0,60	0,56	0,58	0,62	L**	14,80
	Equação: $\hat{Y} = 0,654396 - 0,000749987X$ ; $R^2 = 0,77$							

L\*\*=efeito linear (P<0,01); Q\*=efeito quadrático (P<0,05); Q\*\*=efeito quadrático (P<0,01); NS – efeito não significativo.

A variável resistência à quebra apresentou efeito quadrático (P<0,05), sendo recomendado para essa idade BE de 131mEq/kg, carga máxima para fratura de 22,10N. Vieites *et al.* (2004) não observaram influência de dietas acidogênicas (0 a 150mEq/kg) sobre a resistência à quebra aos 21 dias de idade. Nas linhagens modernas de frangos de corte, cada vez mais se exigem do sistema locomotor alta capacidade de suporte de massa muscular em um curto período de vida. Nesse sentido, o entendimento dessa característica, bem como dos fatores que a influenciam, se torna necessário.

Houve efeito quadrático (P<0,01) para o percentual de fósforo no tibiotarso, sendo que o BE de 85 mEq/kg associou-se ao menor valor (16,1%) estimado pela equação para essa característica. O nível de -50mEq/kg correspondeu ao maior percentual ósseo para esse elemento, e também à menor força para a quebra. Thorp e Waddington (1997) obtiveram níveis de fósforo no tibiotarso de frangos aos 35

dias de idade, semelhantes ao obtidos neste experimento. Os autores destacaram que o aumento do teor de fósforo nas cinzas acarretou maior incidência de desordens locomotoras por tornar o cristal ósseo mais fragilizado. Runho *et al.* (2001) também obtiveram valores de fósforo nas cinzas do tibiotarso de frango de corte aos 21 dias de idade próximos aos encontrados neste estudo.

A correta relação entre dietas acidogênicas e aumento nas concentrações de fósforo precisam ser mais bem esclarecidas. Uma hipótese é a influência dos mecanismos adotados pelo organismo contra as mudanças na concentração do íon hidrogênio. Nesse caso, consideram-se como agentes tamponantes o sistema fosfato e os cristais de hidroxiapatita. Outra hipótese refere-se à alteração do ambiente no interior da vesícula da matriz óssea, aumentando a concentração de fosfato inorgânico acima do normal, o que resultaria em um cristal ósseo com alta proporção de fosfato. Edwards e Veltman (1983)

sugerem que o cloro esteja diretamente envolvido no metabolismo ou na absorção de cálcio e fósforo, embora não se conheça esse mecanismo.

A variável relação Ca:P apresentou efeito quadrático ( $P < 0,01$ ) e máximo valor de 2,05, ajustado para um BE de 60 mEq/kg. Thorp e Waddington (1997) indicaram 2:1 como relação Ca:P ótima para a normal mineralização dos ossos e sugeriram que a resistência à quebra seja influenciada pela variação dessa relação. Segundo os autores, se houver quebra na estrutura do cristal de hidroxiapatita, os ossos tornam-se mais frágeis e ficam susceptíveis a fraturas. Williams *et al.* (2000) recomendaram que a relação Ca:P no tibiotarso de linhagens selecionadas de frangos de corte seja de 2,15:1, aos 18 dias de idade. No entanto, os autores verificaram relações que variaram de 1,82:1 a 3,89:1, nesse período, e não encontraram correlação entre a relação Ca:P e a resistência à quebra. Concluíram que o tipo de osso, a quantidade, a distribuição e a proporção entre colágeno e mineral são mais importantes do que a exata forma do cristal do osso.

Os teores de sódio e potássio apresentaram efeito quadrático ( $P < 0,01$ ), recomendando-se para o sódio valor de BE de 68mEq/kg e máximo percentual de 1,27, e para o potássio, BE de 75mEq/kg e máximo valor nas cinzas de 2,66% . O intervalo de 0 a -50mEq/kg apresentou o menor teor de sódio nas cinzas, e o nível de -50mEq/kg, o menor de potássio. Observa-se que os níveis estimados de BE para o valor máximo de sódio e de potássio nos ossos situam-se na mesma faixa, indicando equilíbrio desses cátions para manter o perfeito funcionamento da bomba de sódio e de potássio.

Os níveis de BE influenciaram a composição orgânica do osso. A porcentagem de PC no osso apresentou efeito quadrático ( $P < 0,01$ ), e o nível de BE estimado de 94mEq/kg associou-se ao menor valor (31%). A concentração de PNC no osso teve efeito linear ( $P < 0,01$ ), aumentando à medida que se reduziavam os níveis de BE.

Os teores de PC e PNC apresentaram correlação negativa com a resistência à quebra dos ossos (Tab. 4). O aumento do valor dessas variáveis com a redução dos níveis de BE diminuiu a carga máxima de fratura das tíbias.

Tabela 4. Resultado da análise de correlação entre a variável resistência à quebra e as variáveis PC e PNC

Variável	Variável	Observações	Correlação	T	Significância	R
Resistência à quebra	PC	5	-0,9354	-5,2931	.0031	0,93**
Resistência à quebra	PNC	5	-0,7869	-2,5507	-0,0316	0,78*

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $P < 0,001$ ); \* Significativo ao nível de 5% de probabilidade, ( $P < 0,005$ ).

Portanto, pode-se inferir que dietas acidogênicas alteram a composição da matriz orgânica do osso e estão correlacionadas negativamente com a resistência à quebra. Knott e Bailey (1999) afirmam que mudanças na matriz colagenosa estão direta e indiretamente relacionadas com as mudanças na propriedade mecânica do osso. Esses autores sugeriram que as concentrações de PNC nos ossos estejam relacionadas negativamente com a maturação e a formação de ligação cruzada do colágeno, resultando em diminuição da resistência à quebra do osso.

Dietas acidificadas com  $\text{NH}_4\text{CL}^-$  proporcionaram aumento da concentração de PNC no tibiotarso de frango de corte aos 21 dias de idade, semelhante ao verificado por Vermeer *et al.* (1995), ao relatarem que as Gla-proteínas, que compõem parte das PNC, podem inibir a mineralização óssea ou estimular a ação dos osteoclastos. Os resultados deste estudo também se assemelham aos de Silva *et al.* (2001), que constataram baixa resistência à quebra do tibiotarso de frangos na fase inicial e redução de problemas locomotores com dietas com menor concentração de PNC.

## CONCLUSÕES

Nas condições deste experimento, dietas aniônicas influenciam o metabolismo de minerais e da proteína colágena e não colágena do tibiotarso de frangos de corte ao final da fase inicial de criação. A redução do balanço eletrolítico da dieta em nível inferior a 150mEq/kg, proporcionado por ingredientes que contêm cloro, influencia negativamente a mineralização e a resistência óssea. A resistência à quebra do tibiotarso não está correlacionada com as concentrações dos minerais de forma individual, mas correlaciona-se negativamente com as concentrações de proteínas colágenas e não colágenas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANKS, W.J. Histologia Veterinária aplicada. 2ed. São Paulo: Manole Ltda, 1991. 629p.
- BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. Experimentação Agrícola. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 1992. 247p.
- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, v.72, p.248-254, 1976.
- EDWARDS, H.M.; VELTMAN, J.R. The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyschondroplasia in young chicks. *J. Nutr.*, v.113, p.1568-1575, 1983.
- FIELD, R.A. Ash and calcium as measures of bone in meat and bone mixtures. *Meat Sci.*, v.55, p.255-264, 2000.
- GUIMARÃES, V.M. *Efeitos de aminoácidos dispensáveis e indispensáveis no desempenho e anomalias das pernas de pintos de corte*. 1988. 54f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1988.
- GOMES, P.C.; GOMES, M.F.M.; ALBINO, L.F.T. et al. Exigência de fósforo disponível para frangos de corte nas fases de crescimento e terminação. *Rev. Bras. Zootec.*, v.23, p.615-622, 1994.
- HAUSCHKA, P.V.; GALLOP, P.M. Purification and calcium binding properties of osteocalcin, the carboxylglutamate containing protein of bone. In: WASSERMAN, R.H.; Calcium binding proteins and calcium function. Amsterdam: Elsevier, p.338-347, 1977.
- KNOTT, L.; BAILEY, A.J. Collagen biochemistry of avian bone: comparison of bone type and skeletal site. *Br. Poultr. Sci.*, v.40, p.371-379, 1999.
- MONGIN, P.; SAUVEUR, B. Interrelationships between mineral nutrition, acid-base, growth and cartilage abnormalities. *Proc. Poultr. Sci.*, n.12, p.235-247, 1977.
- MONGIN, P. Recent advances in dietary anion-cation balance: application in poultry. *Proc. Nutr. Soc.*, v.40, p.285-294, 1981.
- PATIENCE, J.F. A review of the role acid-base balance in amino acid nutrition. *J. Anim. Sci.*, v.68, p.398-408, 1990.
- RATH, N.C.; HUFF, G.R.; BALOG, J.M. Factors regulating bone maturity and strength in poultry. *Poultr. Sci.*, v.79, p.1024-1032, 2000.
- ROACH, H.I. Why does bone matrix contain non-collagenous proteins? The possible roles of osteocalcin, osteopontin and bone sialoprotein in bone mineralization and resorption. *Cell Bio. Inter.*, v.18, p.617-628, 1994.
- ROSTAGNO, H.S. Tabelas brasileiras para aves e suínos: Composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia, 2000. 141p.
- RUNHO, R.C.; GOMES, P.C.; ROSTAGNO, H.S. et al. Exigência de fósforo disponível para frangos de corte machos e fêmeas de 1 a 21 dias de idade. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, p.187-196, 2001.
- SAUVEUR, B. Dietary factors as causes of leg abnormalities in poultry – A Review. *World. Poultr. Sci. J.*, v.40, p.195-206, 1984.
- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Análises de alimentos: métodos químicos e biológicos. 3.ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2002. 235p.

*Variação aniônica da dieta...*

SILVA, F.A.; MORAES, G.H.K.; RODRIGUES, A.C.P. *et al.* Efeitos do ácido l-glutâmico e da vitamina D3 no desempenho e nas anomalias ósseas de pintos de corte. *Rev. Bras. Zootec.*, v.30, p.2059-2066, 2001.

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

VERMEER, C.; JIE, K.S.G.; KNAPEN, H.J. Role of vitamin k in bone metabolism. *Ann. Rev. Nutr.*, v.15, p.1-22, 1995.

VIEITES, F.M.; MORAES, G.H.K.; ALBINO, L.F.T. *et al.* Balanço eletrolítico e níveis de proteína bruta sobre parâmetros sanguíneos e ósseos de frangos de corte aos 21 dias de idade. *Rev. Bras. Zootec.*, v.33, p.1520-1530, 2004.

YOUNG, M.F. Bone matrix proteins: their function, regulation, and relationship to osteoporosis. *Osteoporos. Int.*, v.14, p.35-42, 2003.

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

WILLIAMS, B.; WADDINGTON, D.; MURRAY, D.H. *et al.* Bone strength during growth: influence of growth rate on cortical porosity and mineralization. *Calcif. Tissue Int.*, v.74, p.236-245, 2004.