

ÉRIKA MARTINS DE FIGUEIREDO

**NÍVEIS DE GLUTAMINA EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE
MANTIDOS EM DIFERENTES AMBIENTES TÉRMICOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

F475n
2012

Figueiredo, Érika Martins de, 1981-
Níveis de glutamina em rações para frangos de corte
mantidos em diferentes ambientes térmicos / Érika Martins de
Figueiredo. – Viçosa, MG, 2012.
xiii, 53f. : il. ; 29cm.

Orientador: Rita Flávia Miranda de Oliveira Donzele.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Frango de corte - Alimentação e rações. 2. Glutamina.
3. Frango de corte - Efeito da temperatura. 4. Frango de corte
- Calor - Efeito fisiológico. 5. Frango de corte - Registros de
desempenho. 6. Temperatura corporal - Regulação.
7. Regulação de expressão gênica. I. Universidade Federal de
Viçosa. II. Título.

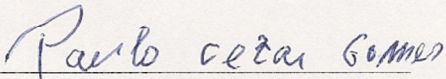
CDD 22. ed. 636.50852

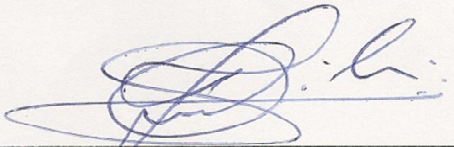
ÉRIKA MARTINS DE FIGUEIREDO

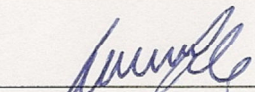
**NÍVEIS DE GLUTAMINA EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE
MANTIDOS EM DIFERENTES AMBIENTES TÉRMICOS**

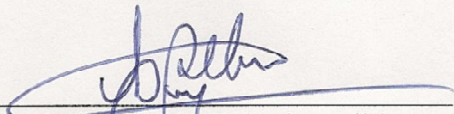
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

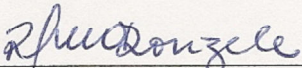
APROVADA: 16 de julho de 2012.


Paulo Cezar Gomes


Francisco Carlos de Oliveira Silva


Juarez Lopes Donzele
(Coorientador)


Luiz Fernando Teixeira Albino
(Coorientador)


Rita Flávia Miranda de Oliveira Donzele
(Orientadora)

À Deus, meu pilar, meu tudo, sem o qual não teria conquistado esta vitória.

Aos meus pais, Carlos Alberto de Figueiredo e Maria Sueli Martins de Figueiredo, por toda confiança depositada em mim, por ser a razão das minhas conquistas, pelo amor e por todo apoio nesta caminhada.

Aos meus irmãos, Leonardo Martins de Figueiredo, Carlos Alberto Martins de Figueiredo e Maria Aparecida Martins de Figueiredo, pela amizade, pela força, pelo carinho e pela presença constante em minha vida.

A minha cunhada Paula Heloisa de Souza Figueiredo pelos vastos conselhos e momentos de alegrias.

Ao meu sobrinho e afilhado João Pedro de Souza Figueiredo, minha fonte de alegria, tesouro da dindinha.

Ao meu namorado Vinício Luiz Silva Leão por todo amor, carinho, força e companheirismo e por estar sempre ao meu lado me apoiando e me fazendo acreditar que todo sonho é possível. Te amo Tchu!!!!

A minha família de Viçosa, Eliane, Júnior, Víctor e Geovanni por toda acolhida e carinho.

À todos vocês, meus sinceros agradecimentos. AMO VOCÊS!

Agradeço e dedico!

AGRADECIMENTOS

À *DEUS*, pela infinita fidelidade e pela força que me incentiva a seguir mesmo que as dificuldades pareçam estar além do meu alcance. “Senhor, te agradeço por me acolher em seus braços, pelas oportunidades que tem me dado de testemunhar o seu amor, pelo teu perdão e por me dar um vida plena e abundante. Não há nada neste mundo que se compare ao prazer que é sentir a tua santa presença. Obrigada!”.

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

À Prof^a. Dr^a. Rita Flávia Miranda de Oliveira Donzele, pela oportunidade e orientação na pós-graduação, e principalmente, pela amizade, pelos ensinamentos transmitidos, pelo apoio, carinho e dedicação.

Ao Prof. Dr. Juarez Lopes Donzele, pela paciência, dedicação e ensinamentos transmitidos na realização dessa dissertação.

Ao Prof. Dr. Luiz Fernando Teixeira Albino, pelo carinho, amizade, participação, sugestões e críticas apresentadas que foram fundamentais para a realização desta dissertação.

Ao professor Dr. Paulo Cezar Gomes e ao pesquisador Francisco Carlos de Oliveira Silva pelos conselhos e participação na banca examinadora.

Aos funcionários do Setor de Avicultura da UFV, principalmente Adriano, Zé Lino e Elízio, por toda ajuda que foi fundamental para execução deste trabalho e pelas boas conversas e risadas.

Ao grande amigo e “irmão”, Marcus Vinícius de Lima Antunes, parceiro eterno, pela força, pelos infindáveis momentos de alegria e companheirismo, pela amizade sincera e cumplicidade. Muito obrigada por tudo!

Aos bolsistas da Bioclimatologia Animal, Aline Nantes Sélos, Cândida Pollyanna Francisco Azevedo e Rodrigo Ferreira Jacob pela responsabilidade e dedicação que foram fundamentais para a condução dos experimentos, pelos bons momentos que compartilhamos juntos, tornando o trabalho divertido e pelo comprometimento na execução destes trabalhos.

Aos estagiários Carlos Frederico Chiodi e Karen Pereira da Silva pela ajuda essencial na execução deste trabalho.

Ao amigo Rafael Alves Vianna, pela amizade, pelo companheirismo e por sempre estar disposto a ajudar em todas as horas. Muito obrigada por tudo!

À amiga, Rosana Cardoso Maia, pela amizade, apoio e por acreditar em mim.

À amiga Katiene Régis por toda orientação e ajuda nas análises laboratoriais que foi de extrema importância para a realização deste trabalho. Deste trabalho nasceu uma amizade sincera e inesquecível.

A todos do LABTEC que estiveram sempre disponíveis a ajudar.

A Val e a Gaia por estes 2 anos de convivência, e pelos momentos de alegrias, desabafos e descontração. Vou sentir saudade de vocês!

Aos inesquecíveis amigos e companheiros Jorge, Gabriel (Macaé), Jéssica Mansur, Matheus Faria, Diego Martins, Marilu, Nicolly, Gregório, Roberta, Will, pela amizade construída ao longo desses anos, pelo companheirismo nesta caminhada.

Aos amigos Eric Márcio Balbino e Evandro Ferreira Cardoso pelo aprendizado, dedicação e total ajuda na execução deste trabalho. Minha sincera gratidão a vocês que não mediram esforços para me ajudar.

Aos amigos Amanda Dione Silva e Tarciso Tizziani pela amizade e pela execução deste trabalho.

À Zootecnia, profissão que escolhi e que amo.

Enfim, a todos aqueles que não estão nominalmente citados, mas que sempre estiveram ao meu lado, me apoiando e formando uma “torcida organizada”, obrigada por todo carinho, pela força constante e por todos os momentos que constroem a minha vida!

Ninguém consegue alcançar um objetivo sozinho.

Meu muito obrigado a todos!

"Antes de julgar a minha vida ou o meu caráter... calce os meus sapatos e percorra o caminho que eu percorri, viva as minhas tristezas, as minhas dúvidas e as minhas alegrias. Percorra os anos que eu percorri, tropece onde eu tropecei e levante-se assim como eu fiz. E então, só aí poderás julgar. Cada um tem a sua própria história. Não compare a sua vida com a dos outros. Você não sabe como foi o caminho que eles tiveram que trilhar na vida."

Clarice Lispector

BIOGRAFIA

Érika Martins de Figueiredo, filha de Carlos Alberto de Figueiredo e Maria Sueli Martins de Figueiredo, nasceu em Belo Horizonte, Minas Gerais, em 15 de setembro de 1981.

Em maio de 2006, iniciou o curso de graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Viçosa, concluindo em julho de 2010.

Em agosto de 2010, ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia, na área de Bioclimatologia Animal, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa da dissertação no dia 16 de julho de 2012.

SUMÁRIO

	Págs.
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Influência do ambiente térmico na produção animal.....	3
2.1.1. Glutamina.....	4
2.1.2 Glutamina e síntese de proteínas de choque térmico (HSP)	6
2.1.3 Glutamina e síntese de glutatona.....	10
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	14

CAPÍTULO 1

Níveis de glutamina em rações para frangos de corte mantidos em ambiente de alta temperatura dos 21 aos 42 dias de idade.....	21
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	22
Introdução.....	23
Material e Métodos.....	24
Resultados e Discussão.....	29
Conclusão.....	34
Literatura Citada.....	35

CAPÍTULO 2

Níveis de glutamina em rações para frangos de corte mantidos em termoneutralidade dos 21 aos 42 dias de idade	38
RESUMO.....	38
ABSTRACT.....	39
Introdução.....	40
Material e Métodos.....	41
Resultados e Discussão.....	46
Conclusão.....	49
Literatura Citada.....	50
CONCLUSÃO GERAL.....	53

LISTA DE TABELAS

	Págs.
NÍVEIS DE GLUTAMINA EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE MANTIDOS EM AMBIENTE DE ALTA TEMPERATURA DOS 21 AOS 42 DIAS DE IDADE	
Tabela 1 – Composições centesimal e calculada das rações experimentais...	26
Tabela 2 - Sequências dos primers HSP70, β -actina e GAPDH.....	28
Tabela 3 – Desempenho de frangos de corte recebendo rações com diferentes níveis de glutamina, mantidos em ambiente de alta temperatura dos 21 aos 42 dias de idade.....	30
Tabela 4 – Peso absoluto e rendimento de carcaça e de cortes nobres das aves recebendo rações com diferentes níveis de glutamina, mantidas em ambiente de alta temperatura aos 42 dias de idade.....	33
NÍVEIS DE GLUTAMINA EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE MANTIDOS EM AMBIENTE DE TERMONEUTRALIDADE DOS 21 AOS 42 DIAS DE IDADE	
Tabela 1 – Composições centesimal e calculada das rações experimentais...	42
Tabela 2 - Sequências dos primers HSP70, β -actina e GAPDH.....	45
Tabela 3 - Desempenho de frangos de corte recebendo rações com diferentes níveis de glutamina, mantidos em ambiente termoneutro dos 21 aos 42 dias de idade.....	47
Tabela 4 - Peso absoluto e rendimento de carcaça e de cortes nobres das aves recebendo rações com diferentes níveis de glutamina, mantidas em ambiente de termoneutralidade aos 42 dias de idade.....	48

LISTA DE FIGURAS

	Págs.
NÍVEIS DE GLUTAMINA EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE MANTIDOS EM AMBIENTE DE ALTA TEMPERATURA DOS 21 AOS 42 DIAS DE IDADE	
Figura 1 – Consumo de ração de frangos de corte alimentados com rações com níveis crescentes de glutamina, mantidos em ambiente de alta temperatura dos 21 aos 42 dias de idade.....	31
Figura 2 – Ganho de peso de frangos de corte alimentados com rações com níveis crescentes de glutamina, mantidos em ambiente de alta temperatura dos 21 aos 42 dias de idade.....	32
Figura 3 – Expressão relativa do mRNA da proteína do choque térmico (HSP70) no músculo <i>Pectoralis major</i> de frangos de corte mantidos em ambiente de alta temperatura aos 42 dias de idade.....	33
NÍVEIS DE GLUTAMINA EM RAÇÕES PARA FRANGOS DE CORTE MANTIDOS EM TERMONEUTRALIDADE DOS 21 AOS 42 DIAS DE IDADE	
Figura 1 – Expressão relativa do mRNA da proteína do choque térmico (HSP70) no músculo <i>Pectoralis major</i> de frangos de corte mantidos em ambiente de termoneutralidade aos 42 dias de idade	49

RESUMO

FIGUEIREDO, Érika Martins de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2012. **Níveis de glutamina em rações para frangos de corte mantidos em diferentes ambientes térmicos.** Orientadora: Rita Flávia Miranda de Oliveira Donzele. Coorientadores: Juarez Lopes Donzele e Luiz Fernando Teixeira Albino.

Foram utilizados 336 frangos de corte machos sexados da linhagem Cobb[®] em dois experimentos para avaliar níveis de glutamina em rações para frangos de corte dos 21 aos 42 dias de idade mantidos em ambiente de alta temperatura e de termoneutralidade. Em cada experimento 168 aves foram distribuídas em delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos (níveis de glutamina), sete repetições e seis aves por unidade experimental. Os níveis de glutamina nas rações experimentais foram: 0,00; 0,50; 1,00 e 1,50%. Em ambos os experimentos, foram avaliados: desempenho, rendimentos de carcaça, peito coxa, sobrecoxa e expressão do mRNA da proteína HSP70. No experimento 1 os frangos com 21 dias de idade e com peso inicial de $987 \pm 3,05$ g, foram alojados em câmaras climáticas com temperatura de $31,3 \pm 0,66^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $69 \pm 6,12\%$ que resultaram em um ITGU calculado de $83 \pm 1,80$, caracterizando um ambiente de alta temperatura. O consumo de ração (CR) dos frangos de corte mantidos no ambiente de estresse por calor variou de forma quadrática, em função dos níveis de glutamina da ração aumentando até o nível estimado de 0,60%. De forma similar ao consumo de ração, o ganho de peso (GP) das aves no calor também aumentou de forma quadrática até o nível estimado de 0,66% de glutamina. Os níveis de glutamina não influenciaram a conversão alimentar (CA) das aves mantidas no ambiente por estresse por calor. Não se observou efeito dos níveis de glutamina nos pesos absolutos e nos rendimentos de carcaça, de peito, de coxa e de sobrecoxa das aves mantidas em ambiente de alta temperatura. Verificou-se aumento significativo da expressão do mRNA da proteína HSP70 nas aves suplementadas com 1,50% de glutamina na ração. Conclui-se que a inclusão da glutamina na ração teve efeito positivo nas aves mantidas em ambiente de alta temperatura, com nível estimado de 0,66% proporcionando o melhor resultado de ganho de peso. No experimento 2 os frangos com 21 dias de idade e peso inicial de $900 \pm 4,71$ g, foram alojados em câmaras climáticas com temperatura de $23,2 \pm 1,77^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 5,8\%$ que resultaram em um ITGU calculado de $72 \pm 2,75$, caracterizando um ambiente de termoneutralidade. Não se observou efeito dos níveis de glutamina na

ração nas variáveis de desempenho (consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar) das aves mantidas em ambiente de termoneutralidade. Não se verificou efeito dos níveis de glutamina na ração nos pesos absolutos e nos rendimentos de carcaça, peito, coxa e sobrecoxa das aves mantidas em ambiente termoneutro. Com relação a expressão do mRNA da proteína HSP70 não se observou efeito dos níveis de glutamina suplementados na ração. Conclui-se que níveis de glutamina na ração não influenciaram o desempenho de frangos de corte mantidos em ambiente termoneutro dos 21 aos 42 dias de idade.

ABSTRACT

FIGUEIREDO, Érika Martins de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2012. **Glutamine levels in diets for broiler chickens kept in different thermal environments.** Adviser: Rita Flávia Miranda de Oliveira Donzele. Co-advisers: Juarez Lopes Donzele and Luiz Fernando Teixeira Albino.

We used 336 male broiler chicks sexed Cobb® in two experiments to evaluate levels of glutamine in diets for broilers from 21 to 42 days old were kept under high temperature and thermoneutral. In each experiment, 168 birds were distributed in a completely randomized design with four treatments (levels of glutamine), seven replicates of six birds each. Glutamine levels in experimental diets were: 0,00, 0,50, 1,00 and 1.50%. In both experiments were evaluated: performance, carcass yield, breast drumstick, thigh and mRNA expression of HSP70 protein. In experiment 1 broilers with 21 days of age and starting weight of $987 \pm 3,05$ g were housed in environmental chambers with temperature of $31,3 \pm 0,66^{\circ}\text{C}$ and relative humidity of $69 \pm 6,12\%$ BGT resulted in a calculated $83 \pm 1,80$, featuring a high temperature environment. The feed intake (FI) of broilers maintained under heat stress was exponentially, depending on the levels of glutamine to the diet by increasing the estimated level of 0,60%. Similar to feed intake, weight gain (WG) of the birds in the heat also increased quadratically up to the level of 0,66% glutamine. Glutamine levels did not affect feed conversion (FC) of birds kept in the environment for heat stress. There was no effect of glutamine levels in absolute weights and carcass, breast, thigh and drumstick of birds kept in high temperature environment. There was significant increase in mRNA expression of the protein HSP70 in birds supplemented with 1,50% of glutamine in the diet. It is concluded that the inclusion of glutamine in the diet had a positive effect in the birds kept in an environment of high temperature, at an estimated level of 0.66% giving the best result in weight gain. In experiment 2 chickens at 21 days of age and starting weight of $900 \pm 4,71$ g were housed in environmental chambers with temperature of $23,2 \pm 1,77^{\circ}\text{C}$ and relative humidity of $70 \pm 5,8\%$ resulting in a BGT estimated $72 \pm 2,75$, featuring a thermoneutral environment. There was no effect of glutamine levels in the diet on performance variables (feed intake, weight gain and feed conversion) of birds kept in thermoneutral environment. There was no effect of glutamine levels in the diet for

absolute weight and carcass yield, breast, thigh and drumstick of birds kept in thermoneutral environment. Regarding mRNA expression of HSP70 protein was not observed effect levels of glutamine supplementation in the diet. It is concluded that glutamine levels in the diet did not affect the performance of broilers kept in thermoneutral environment from 21 to 42 days old.

1 – INTRODUÇÃO GERAL

A avicultura no Brasil destaca-se mundialmente devido sua tecnificação e produtividade, como resultado dos avanços nas áreas de manejo, melhoramento genético, nutrição e sanidade.

Entretanto, a avicultura de corte moderna, para atingir melhores resultados econômicos e produtivos, precisa avançar não só nos aspectos genéticos, nutricionais e sanitários, mas também nos aspectos ambientais, que interferem diretamente na expressão do potencial genético, na eficiência de utilização de nutrientes e nos aspectos sanitários das aves.

O estresse por calor tem sido uma das maiores causas da redução do desempenho e elevada mortalidade em frangos de corte (Dai et al., 2009). Assim, pesquisas vêm sendo realizadas para amenizar os efeitos negativos causados pelo ambiente de alta temperatura no desempenho de aves. Muitos métodos estão focados em manipulação da dieta (Tankson et al., 2001; Sahin et al., 2003), por exemplo, adição de vitaminas ou microminerais (zinco, selênio, crômio, manganês, etc) na ração. No entanto, pouca informação está disponível sobre os efeitos da suplementação dietética com aminoácidos no desempenho e nas características de carcaça em frangos de corte submetidos ao estresse por calor.

A glutamina é o aminoácido livre mais abundante no plasma e no tecido muscular em condição saudável, porém quando em condições de estresse as concentrações teciduais deste aminoácido reduzem (Askanazi et al., 1980). Por isso, pesquisas vêm sendo realizadas com suplementação de glutamina na ração, visto que este aminoácido melhora a sobrevivência de células e a função imune, diminui bacteriemia, aumenta a barreira intestinal e inibe a atrofia da mucosa intestinal (Souba, 1991; Gianotti et al., 1995). Além disso, a glutamina pode modular a ativação de proteínas de estresse ou choque térmico (HSP's), que estão relacionadas com a proteção celular (Curi et al., 2005). As HSP's são proteínas altamente conservadas, visto que podem ser encontradas desde organismos mais primitivos (procariotas) até organismos mais evoluídos (eucariotas) e são ativadas quando uma célula é exposta a algum tipo de estresse, desencadeando respostas intracelulares, com o objetivo de proteger a célula de uma possível lesão. Elas auxiliam no reparo de estruturas na molécula proteica e na identificação e no remodelamento de proteínas danificadas durante períodos de estresse. Estudos

indicam que o aumento da disponibilidade de glutamina para as células pode aumentar a expressão das HSP's, o que mantém a capacidade de célula a resistir à lesões (Sanders & Kon 1991).

Assim, foi proposto um estudo para avaliar níveis de glutamina na ração para frangos de corte machos submetidos a ambientes de alta temperatura e de termoneutralidade dos 21 aos 42 de idade.

Os artigos a seguir foram editorados com base nas exigências da Revista Brasileira de Zootecnia, publicada pela Sociedade Brasileira de Zootecnia, com adaptação às normas para elaboração de teses da Universidade Federal de Viçosa - UFV.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Influência do ambiente térmico na produção animal

Ao longo dos anos, as linhagens de frangos de corte foram melhoradas geneticamente para apresentarem melhor capacidade de absorção de nutrientes, rápido crescimento e alta taxa de deposição de proteína muscular. Contudo, pouca atenção foi dada à sua capacidade de dissipar o calor gerado pela maior atividade metabólica, o que tornou esses animais mais susceptíveis ao estresse por calor (Macari et al., 2004; Yahav et al., 2005; Furlan, 2006).

Na tentativa de compensar a reduzida capacidade de dissipar o calor durante a exposição a temperaturas elevadas, os frangos de corte intensificam os processos fisiológicos responsáveis pela dissipação de calor e também aqueles destinados a reduzir a produção de calor corporal. Como consequência, tem sido observada redução no consumo de ração, diminuição do ganho de peso, piora na eficiência de utilização dos alimentos e redução na taxa de sobrevivência desses animais (Donkoh, 1989; Siegel, 1995, Oliveira Neto et al., 2000; Macari et al., 2004; Yahav et al., 2005; Siqueira et al., 2007). Além disso, o estresse por calor também pode afetar as características de carcaça causando redução no peso da carcaça e diminuição do teor de proteína muscular, podendo ocasionar expressivas perdas econômicas no setor de produção avícola (Yunianto et al., 1997; Tankson et al., 2001; Dai et al., 2009).

Uma das formas de amenizar os efeitos negativos do estresse por calor nas aves é a manipulação e o controle do ambiente térmico. Todavia essa prática tem sido, na maioria das vezes, onerosa e pode prejudicar a competitividade do produto final no mercado. Assim, os nutrientes da ração têm sido objetos de manipulação na tentativa de atenuar o problema (Sahin et al., 2002 e 2003; Araújo et al., 2007; Vaz et al., 2009) sendo o aminoácido glutamina utilizado para melhorar a resposta ao estresse por calor (Ehrenfried et al., 1995; Maiorka et al., 2000; Salehian et al., 2006; Dai et al., 2009).

Em organismos saudáveis, a glutamina é o aminoácido livre mais abundante no plasma sanguíneo e no músculo esquelético. Ela participa de diversos processos metabólicos no organismo, sendo importante fonte energética para enterócitos e células do sistema imune, além de ser precursor de moléculas de proteção da integridade celular, como as proteínas de choque térmico e a glutatona. A partir de

estudos realizados com cobaias, descobriu-se que a suplementação com glutamina pode inibir a atrofia da mucosa intestinal melhorando sua função como barreira contra microorganismos, além de melhorar a função imune e a sobrevivência dos animais (Souba, 1991; Gianotti et al., 1995). Dessa mesma forma, tem-se conseguido atenuar a depleção da glutamina em humanos, após serem submetidos a eventos de estresse metabólico, como cirurgias e exercícios físicos intensos (Roth et al., 2002; Flaring et al., 2003; Cruzat et al., 2007) bem como aumentar a expressão *in vivo* de HSP, melhorando a resistência de células contra uma variedade de estímulos estressantes (Lindemann et al., 2001; Singleton et al., 2005; Dai et al. 2009).

Em contrapartida, as situações ambientais que estimulam maior atividade desses fatores de proteção, provocam também maior utilização de glutamina, podendo causar redução nas suas concentrações plasmáticas e teciduais (Askanazi et al., 1980; Biolo et al., 1997; Cruzat et al., 2009). Esta maior utilização de glutamina pode ocasionar quadro de carência condicional deste aminoácido e subsequente transaminação de outros aminoácidos, incluindo os essenciais, para a síntese de glutamina (Roth et al., 2002). Como consequência, tanto as concentrações dos demais aminoácidos quanto as suas relações podem ser alteradas, resultando em piora no desempenho produtivo das aves.

A suplementação alimentar de glutamina pode ser uma alternativa para melhorar a resposta animal à temperatura elevada. No entanto, existe pouca informação disponível sobre os efeitos da suplementação com aminoácidos na ração no desempenho e nas características de carcaça de frangos de corte estressados pelo calor.

2.1.1 Glutamina

A glutamina ($C_5H_{10}N_2O_3$) um L- α -aminoácido, com peso molecular de aproximadamente 146,15 kda é o aminoácido livre mais abundante no plasma e no tecido muscular, sendo também encontrada em concentrações relativamente elevadas em outros diversos tecidos corporais (Rowbottom et al., 1996).

Fazem parte de sua composição química nas respectivas quantidades: carbono (41,09%), oxigênio (32,84%), nitrogênio (19,17%) e hidrogênio (6,90%) (Curi, 2000; Rogero et al., 2003). A classificação da glutamina como um aminoácido não essencial, tem sido questionada, pois em situações críticas, tais como cirurgias, traumas, exercícios físicos exaustivos, estresse por calor, lesão na mucosa, a síntese

de glutamina não supre a demanda exigida pelo organismo (Smith, 1990; Santos et al., 2007; Wray et al., 2007). A proliferação e o desenvolvimento de células, em especial as do sistema imune, o balanço ácido-básico, o transporte da amônia entre os tecidos, a doação de esqueletos de carbono para a gliconeogênese, entre outros, são algumas das funções em que a glutamina está envolvida (Rogerio et al., 2003; Newsholme et al., 2003a).

Duas enzimas são responsáveis pela síntese de glutamina a partir do glutamato ou por sua degradação, também em glutamato, a saber, a glutamina sintetase e a glutaminase, respectivamente (Newsholme et al., 2003b; Rowbottom et al., 1996).

Mediante a catálise de conversão de glutamato em glutamina e da utilização da amônia como fonte de nitrogênio e com consumo de trifosfato de adenosina (ATP), a glutamina sintetase é a enzima chave para a síntese da glutamina e para a regulação do metabolismo celular do nitrogênio. Segundo Maiorka (2002), os órgãos mais eficientes na formação da glutamina são o encéfalo, pulmões e o músculo esquelético, e a hidrólise ocorre principalmente no intestino e nos rins. O fígado pode ser um produtor e um consumidor deste aminoácido, devido à alta atividade das enzimas glutamina sintetase e glutaminase.

Este aminoácido é importante na gliconeogênese, síntese de uréia, na síntese de neurotransmissores, diferenciação e síntese celular, síntese de nucleotídeos e ácidos nucléicos e produção de glutathione (Smith, 1990). Segundo Newsholme et al. (2003a), a glutamina é tão importante quanto a glicose para a manutenção da função celular, visto a sua atuação na proliferação celular, principalmente nas células de crescimento rápido como os enterócitos.

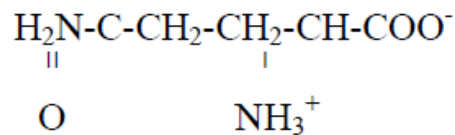
A glutamina juntamente com a alanina é a principal molécula utilizada no transporte de grupos aminos dos tecidos até o fígado, onde ocorre a remoção do nitrogênio, e o esqueleto de carbono é destinado a gliconeogênese (Lehninger et al., 1995). A hidrólise da glutamina resulta na formação do glutamato, que pode ser utilizado na síntese protéica ou convertido em α -cetoglutarato, que é oxidado no ciclo de Krebs, resultando na produção de 30 moles de ATP (Souba et al., 1985). Segundo Khan et al. (1999) a glutamina atua ainda como precursor de N-acetil-glucosamina e N-acetil-galactosamina, que podem exercer papel importante na produção de mucina e, portanto na manutenção da barreira de proteção contra agentes bacterianos. A glutamina segue duas rotas funcionais: na primeira o

nitrogênio do grupo amino da glutamina está envolvido com a síntese de purinas, pirimidinas e aminoaçúcares, e na segunda rota a cadeia carbonada do grupo α -amino da glutamina entra na via de síntese de outros aminoácidos, principalmente ornitina, citrulina e arginina.

Souba et al. (1990) constatou correlação positiva entre a concentração de glutamina livre e a taxa de síntese protéica no músculo esquelético. Ou seja, quanto maior a concentração de glutamina circulante, maior a taxa de síntese de proteína. A glutamina, além de estimular a síntese protéica no músculo, possui efeito inibitório na quebra de proteínas musculares (MacLennan et al., 1988). Portanto, a glutamina, pode atuar como um regulador metabólico aumentando a síntese de proteína e reduzindo o catabolismo protéico se suplementada na ração (Lobley et al., 2001).

A glutamina contém em sua estrutura dois grupos de nitrogênio que podem ser mobilizados, isto a torna um transportador de nitrogênio para os tecidos. Além disso, pode desempenhar um papel essencial em várias vias metabólicas importantes (Marliss et al., 1971; Smith, 1990).

Glutamina (Gln)



2.1.2 Glutamina e síntese de proteínas de choque térmico (HSP)

Os efeitos negativos do estresse por calor no desempenho de frangos de corte têm sido relatados ao longo dos anos por vários pesquisadores (Donkoh, 1989; Oliveira Neto et al., 2000; Sahin et al., 2003; Yahav et al., 2005; Furlan, 2006; Araújo et al., 2007; Siqueira et al., 2007; Vaz et al., 2009, Dai et al., 2009). Tais efeitos prejudicam a comercialização das aves e causam perdas econômicas no setor de produção avícola. Este fato constitui uma prerrogativa para se estimular a busca por conhecimentos que possam auxiliar na redução das perdas provocadas pelo estresse por calor.

Estudos com diferentes genótipos de frangos de corte têm indicado que existem linhagens mais tolerantes ao estresse por calor, evidenciando a existência de uma

base genética para a característica (Cahaner et al., 1993; Eberhart et al., 1993; Dionello et al., 2002). Dessa forma, e considerando o fenótipo, a expressão do genótipo em função de determinado estímulo ambiental, a tolerância dos frangos ao estresse por calor pode ser melhorada pelo processo adaptativo denominado de aclimação (Arjona et al., 1988). A pré-indução da resposta ao estresse térmico pode fornecer marcada proteção contra muitas formas de injúria celular, incluindo a temperatura ambiente elevada não-letal (De Maio, 1999; Jayakumar et al., 2001; Dionello et al., 2002; Cruzat et al., 2009). Contudo, maior atenção deve ser dada ao aporte de nutrientes necessários a atender o novo “status fisiológico” de adaptação desenvolvido pela ave, de forma que o atendimento nutricional seja adequado para atender tanto a expressão de proteínas musculares, quanto a expressão aumentada de moléculas protetoras do organismo (Oliveira Neto et al., 2009).

Entre os mecanismos de proteção do organismo contra altas temperaturas encontra-se uma família de proteínas essenciais, conhecida como proteínas de choque térmico ou de calor ou de estresse (HSP) (Dai et al., 2009). Existem várias isoformas de HSP e são classificadas de acordo com seu peso molecular (60, 70, 90 e 100 kDa) (Welch, 1992; Benjamin et al., 1998; Antunes Neto, 2008). As isoformas mais abundantes e mais estudadas são as da família HSP 70, consideradas as principais representantes entre as proteínas induzíveis por estresse e são detectadas em todos os tecidos do corpo, em diversos compartimentos da célula eucariótica incluindo as mitocôndrias, os retículos endoplasmáticos e o núcleo (Antunes Neto, 2008; Lee, 2005).

A ativação dessas proteínas corresponde a uma das principais vias de sinalização que contribuem para o aumento da capacidade da célula de sobreviver a alterações na sua homeostase em decorrência da exposição a agentes estressores, como, agentes infecciosos, espécies reativas de oxigênio, radiação ultravioleta e calor (Gabai et al., 2002; Cruzat et al., 2007; Dai et al., 2009). Trabalhando com osteosarcomas humanos, Kubo et al. (1996) observaram aumento na síntese de HSP 70 que continuou por oito horas seguidas após o estresse por calor de 43°C. Segundo o autor, a HSP 70 tem um papel crucial na sobrevivência da célula sob estresse por calor.

Em estudos realizados com frangos de corte, Gabriel et al. (1995) relataram aumento nos níveis de HSP e de seu RNA mensageiro em diferentes tecidos das aves expostas a altas temperaturas. Trabalhando com pintos de corte no período de 0 a 5

dias de idade, estressados ou não pelo calor, Dionello et al. (2001) observaram maiores níveis de Hsp70 no fígado das aves estressadas pelo calor (36°C) do que naquelas mantidas em ambiente controle (32°C). Em trabalhos posteriores, Dionello et al. (2002) encontraram correlação positiva entre a produção de HSP 70 e o aumento da temperatura cloacal em pintos de corte estressados pelo calor (36°C), no período de 0 a 5 dias de idade. O aumento no conteúdo de HSP 70 em frangos de corte adultos submetidos ao estresse por calor (34°C) também foi observado por Zulkifli et al. (2009).

Durante o ciclo celular, as HSPs são encontradas em pequenas concentrações. Porém, quando uma célula é exposta a algum tipo de estresse, são desencadeadas respostas intracelulares, com o objetivo de proteger a célula de uma possível lesão (Wischmeyer, 2002). Acredita-se que essa proteção seja mediada pela capacidade das HSP funcionarem como chaperonas (Kiang et al., 1998). As HSP promovem o reparo de estruturas na molécula protéica participando da identificação de proteínas danificadas durante períodos de estresse, conservando e mantendo sua forma estrutural. Além disso, as HSP auxiliam a síntese de novas proteínas (Burg et al., 2007).

Embora a síntese de HSP pelo organismo seja estimulada por agentes estressores, estudos têm evidenciado que o aumento da disponibilidade de glutamina às células pode aumentar a expressão das HSP e, conseqüentemente, melhorar a resposta animal ao estresse ou injúria (Sanders & Kon, 1991; Furst et al., 2004). Segundo Dai et al. (2009), a glutamina, um aminoácido condicionalmente essencial, pode aumentar a expressão *in vivo* de HSP induzida pelo estresse e melhorar a sobrevivência de células contra uma variedade de estímulos estressantes. Além disso, dados recentes indicam que uma única dose intravenosa de glutamina pode melhorar a expressão de HSP, diminuir danos internos e aumentar a sobrevivência ao choque séptico de ratos, leitões desmamados e humanos feridos (Lindemann et al., 2001; Singleton et al., 2005; Cruzat et al., 2009).

Além disso, a glutamina pode influenciar uma diversidade de funções e vias de sinalização celular (Curi et al., 2005). A modulação da expressão de genes relacionados com a síntese e degradação de proteínas, a proliferação celular e a ativação de vias envolvidas com a apoptose celular estão entre as funções exercidas pela glutamina mais estudadas (Newsholme et al., 2003a; Rogero et al., 2003; Curi et al., 2005; Singleton et al., 2005 e 2007).

As HSP's são famílias de polipeptídios agrupadas de acordo com seu peso molecular, cujo principal fator indutor de sua expressão é o acúmulo de proteínas desnaturadas no meio intracelular (Gabai et al., 2002). Durante o ciclo celular, as HSP's são encontradas em pequenas concentrações e em diferentes compartimentos dentro das células. Quando uma célula é exposta a algum tipo de estresse são desencadeadas respostas intracelulares, com o objetivo de proteger a célula de uma possível lesão. Essas respostas têm início com a redução transitória da síntese de proteínas consideradas não vitais, seguida por um aumento na transcrição, tradução e expressão de genes específicos que levam ao aumento da concentração das HSP's (Wischmeyer, 2002). Além disso, as HSP's auxiliam a síntese de novas proteínas, conservando e mantendo sua forma estrutural (Burg et al., 2007). As HSP's são consideradas essenciais no processo de recuperação celular. Segundo Sanders & Kon (1991) o aumento da disponibilidade de glutamina nas células pode aumentar a expressão das HSP's, o que mantém a capacidade da célula em resistir a lesões. Estudos de Burg et al. (2007) demonstraram que a maior parte das funções exercidas pelo aumento da expressão das HSP's esta associada ao fato de essas proteínas apresentarem atividade ATP-dependente, o que lhes possibilita agir como proteínas chaperonas em nível molecular, atuando na proteção contra diversos processos de apoptose celular. O elemento fundamental dessa proteção é a ação inibitória realizada pelas HSP's, por meio de sua ligação à rede de proteases essenciais a apoptose celular, como a caspase-9 e o fator apoptótico ativador de proteases-1 (APAF-1) (Gabai et al., 2002). Outro mecanismo envolvido esta relacionado com a ação isolada de algumas HSP's, principalmente a HSP-27, HSP-70 e HSP-72, na redução da agregação de proteínas nucleares (Gabai et al., 2002).

Wischmeyer et al. (2001) verificaram que animais que receberam doses parenterais de glutamina (0,15 a 0,75 g/kg de peso corporal) tiveram aumentada a expressão de outras HSP, tais como a HSP-25 e HSP-27, mesmo sem terem sido expostos ao estresse.

Efeitos positivos da glutamina administrada por via parenteral (0,75 g/kg de peso corporal) na produção de HSP-72 também foi observado por Wang et al. (2007) em fígado de ratos submetidos a processo infeccioso. Contudo, a maior produção dessa proteína só ocorreu nos animais que foram submetidos previamente a um tratamento de estresse por calor. Nesses animais também foram encontrados maior conteúdo de mRNA para HSP-72 que permaneceu ativo por maior tempo nos ratos

tratados com glutamina. Esses pesquisadores reportaram que a abundância encontrada para a HSP-72 foi devido à maior síntese e não à menor degradação dessa proteína.

Os mecanismos que modulam a expressão dessas proteínas ainda não estão bem elucidados. Entretanto, sabe-se que a capacidade da célula de ativar as HSP em resposta aos agentes estressores é regulada, entre outros mecanismos, pelo fator transcricional de choque térmico-1 (HSF-1) (Nollen et al., 2000; Gabai et al., 2002; Morrison et al., 2006). Em diferentes pesquisas com células de ratos, Peng et al. (2006) e Morrison et al. (2006) relataram que o aumento da disponibilidade da glutamina às células estimula tanto a expressão, tradução e ativação da HSF-1, quanto das HSP. Assim, tem sido demonstrada a importância da glutamina na expressão das HSP, tanto *in vitro* como *in vivo*.

Uma vez que as proteínas do choque térmico contribuem com a melhora da termotolerância, torna-se coerente a busca de alternativas que promovam a maximização da sua expressão no organismo.

2.1.3 Glutamina e síntese de glutathione

Além da produção de HSPs, outros mecanismos envolvidos na homeostase celular podem ser influenciados pela glutamina, tais como o sistema antioxidante. Os radicais livres como o óxido nítrico (NO) e as espécies reativas de oxigênio (ERO), são produzidos normalmente pelo metabolismo corporal (Unno et al., 1997; Arnaud et al., 2002; Cruzat et al., 2007). Entretanto, em situação de campo, muitas vezes os frangos são submetidos a agentes estressores infecciosos e ou não-infecciosos que ativam o sistema imune desses animais e aumentam consideravelmente a produção de radicais livres (Takahashi, 2006; Norup et al., 2008). Neste caso, os radicais livres são produzidos para agir em corpos estranhos dos organismos, pois possuem a capacidade de retirar elétrons de outros compostos moleculares, inativando-os e ou destruindo-os. Como são capazes de provocar danos oxidativos em várias moléculas, o NO e as ERO podem levar à perda total da função celular (Unno et al., 1997; Cruzat et al., 2007).

A temperatura elevada é um agente estressor que pode promover a formação de radicais livres nas células, os quais são liberados por todo o organismo (Zuo et al., 2000; Arnaud et al., 2002; Bernabucci et al., 2002; Mujahid et al., 2006; Takahashi 2006).

Estudando o efeito da temperatura elevada (42°C) na produção de ERO no músculo de diafragma de ratos, Zuo et al. (2000) observaram aumento na formação de superóxidos intracelular e extracelular estimulada pelo estresse térmico. O aumento na produção de ERO por temperatura elevada também foi demonstrado por Flanagan et al. (1998) em células epiteliais de intestino de ratos, após a exposição à temperatura de 45°C por 20 min.

Em trabalhos com poedeira e frangos de corte aos 16 dias de idade, expostos à temperatura de 34°C por 18 horas, Mujahid et al. (2005) relataram que o estresse por calor levou à superprodução de ERO na mitocôndria do músculo esquelético das aves. Em trabalhos posteriores, com frangos de corte aos 21 dias de idade, Mujahid et al. (2006), relataram que a exposição das aves à temperatura de 34°C por 18 horas estimulou a produção de superóxido mitocondrial no músculo esquelético das aves estressadas pelo calor quando comparadas à aves mantidas à 25°C.

Apesar de exercerem efeitos positivos consideráveis para o sistema imune, no estresse crônico a elevada síntese de radicais livres pode aumentar a suscetibilidade de lesões em células normais e promover a fadiga crônica nas aves, prejudicando seu desempenho (Unno et al., 1997; Cruzat et al., 2007 e 2009). Para evitar a ação oxidativa dos radicais livres nas suas próprias células, os organismos possuem um sistema antioxidante de proteção, em que o principal agente intracelular é a glutathione (Roth et al., 2002; Matés et al., 2009).

A glutathione está presente em concentrações elevadas na maioria das células de mamíferos e aves, sendo quantitativamente o antioxidante endógeno mais importante (Flaring et al., 2003). Ela protege a membrana celular e mitocondrial contra a ação oxidativa dos radicais livres nos fosfolipídios. Além disso, a glutathione mantém grupos tiol de muitas proteínas na forma reduzida, o que é necessário para sua função biológica normal (Arrick et al., 1983; Flaring et al., 2003). O estado redox da célula está, portanto, relacionado ao status de glutathione (Tischler, 1980; Cruzat et al., 2007 e 2009). Entretanto, durante a defesa antioxidante a concentração da glutathione fica reduzida nas células e a restauração do seu conteúdo é dependente da sua ressíntese (Arrick et al., 1983). Assim, para que as concentrações de glutathione se mantenham em níveis adequados para proteção do organismo de aves submetidas ao estresse por calor, é necessário que os seus precursores estejam disponíveis no organismo em quantidades adequadas para atender a demanda.

Um importante substrato para a síntese de glutathione é o aminoácido glutamina. No meio intracelular, a glutamina pode sofrer hidrólise e elevar a disponibilidade de glutamato, que é essencial para a síntese da glutathione (Lora et al., 2004; Cruzat et al., 2007; Matés et al., 2009).

Apesar de ser considerado um aminoácido não-essencial, observa-se que em situações de estresse infeccioso ou não-infeccioso a utilização de glutamina pelos tecidos pode exceder a capacidade de síntese desse aminoácido pelo organismo (Newsholme et al., 1989). Dessa forma, as concentrações plasmáticas e teciduais de glutamina podem reduzir (Askanazi et al., 1980; Biolo et al., 1997; Cruzat et al. 2009).

O músculo esquelético desempenha um papel metabólico essencial na regulação do teor de glutamina corporal devido a sua elevada capacidade de síntese e liberação de glutamina, principalmente em situações em que há aumento na demanda desse aminoácido por outros tecidos. Quando a síntese é insuficiente, a glutamina é então liberada do músculo diretamente por catabolismo protéico (Rennie et al., 2001; Francisco et al., 2002).

O tipo de fibra muscular pode influenciar a síntese de glutamina. As fibras oxidativas podem apresentar cerca de três vezes mais estoques de glutamina em comparação com as fibras glicolíticas. Essa diferença está relacionada com a maior atividade da glutamina sintetase e a maior disponibilidade celular de ATP para a síntese de glutamina em fibras oxidativas (Curi et al., 2005; Biolo et al., 2005; Daniel et al., 2005). Em frangos de corte adultos, a musculatura é constituída predominantemente por fibras musculares glicolíticas (Sartori et al., 2003), o que torna seu estoque de glutamina pouco abundante. Assim, esses animais são mais susceptíveis à degradação dessa musculatura em situações em que a demanda de glutamina pelo organismo está aumentada, como no estresse por calor, podendo ocasionar menor rendimento de carne nessas aves.

A suplementação com glutamina pode ser uma alternativa para atender a demanda nutricional da ave por esse aminoácido e, assim, atenuar a degradação da musculatura (MacLennan et al., 1988; Zhou et al., 1997 e 2007). Além disso, pode contribuir para a manutenção das concentrações extra e intratecidual deste aminoácido, garantindo o suporte de glutamina para a síntese de glutathione e, assim, reduzir o efeito oxidativo do estresse por calor nas aves (Schoonen et al., 1990; Rennie et al., 2001; Roth et al., 2002; Valencia et al., 2002; Flaring et al 2003).

Assim, justifica-se o desenvolvimento de pesquisas que ajudem a determinar níveis de glutamina adequados à modulação dos compostos protéicos de proteção do organismo, com o intuito de garantir o máximo desempenho das aves quando em situação de estresse por calor.

3 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTUNES NETO, J.M.F.; SILVA, L.P.; MACEDO, D.V. Proteínas de estresse “HSP70” atuam como marcadoras se estresse oxidativo em ratos “wistar” submetidos a treinamento intermitente de corrida para indução de overreaching. **Brazilian Journal of Biomotricity**, v.9, p.160-175, 2008.
- ARAÚJO, M.S.; BARRETO, S.L.T.; DONZELE, J.L. et al. Níveis de cromo orgânico na dieta de codornas japonesas mantidas em estresse por calor na fase de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.584-588, 2007.
- ARJONA, A.A.; DENBOW, D.M.; WEAVER JR., W.O. Effect of heat stress early in life on mortality of broilers exposed to high environmental temperatures just prior to marketing. **Poultry Science**, v.67, p.226-231, 1988.
- ARNAUD, C.; JOYEUX, M.; GARREL, C. et al. Free-radical production triggered by hyperthermia contributes to heat stress-induced cardioprotection in isolated rat hearts. **British Journal of Pharmacology**, v.135, p.1776-1782, 2002.
- ARRICK, B.A.; NATHAN, C.F.; COHN, Z.A. Inhibition of glutathione synthesis augments lysis of murine tumor cells by sulfhydryl-reactive antineoplastics. **Journal of Clinical Investigation**, v.71, p.258-267, 1983.
- ASKANAZI, J.; CARPENTIER, Y.A.; MICHELSEN, C.B. et al. Muscle and plasma amino acids following injury: influence of intercurrent infection. **Annals of Surgery**, v.192, p.78-85, 1980.
- BENJAMIN, I.J.; MCMILLAN, D.R. Stress (Heat Shock) Proteins: molecular chaperones in cardiovascular biology and disease. **Circulation Research**, v.83, p.117-132, 1998.
- BERNABUCCI, U.; RONCHI, B.; LACETERA, N. et al. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2173-2179, 2002.
- BIOLO, G.; TOIGO, G.; CIOCCHI, B. et al. Metabolic response to injury and sepsis: changes in protein metabolism. **Nutrition**, v.13 (suppl), p.52-57, 1997.
- BIOLO, G.; ZORAT, F.; ANTONIONE, R. et al. Muscle glutamine depletion in the intensive care unit. **The International Journal Biochemistry & Cell Biology**, v.37, p.2169-79, 2005.
- BURG, M.B.; FERRARIS, J.D.; DMITRIEVA, N.I. Cellular response to hyperosmotic stresses. **Physiology Research**, v.87, p.1441-1474, 2007.
- CAHANER, A.; DEEB, N.; GUTMAN, M. Effects of the plumage-reducing nakedneck (Na) gene on the performance of fast-growing broilers at normal and high ambient temperature. **Poultry Science**, v.72, p.767-775, 1993.
- CRUZAT, V.F.; ROGERO, M.M.; BORGES, M.C.A. et al. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.13, p.336-342, 2007.
- CRUZAT, V.F.; PETRY, E.R.; TIRAPEGUI, J. Glutamina: aspectos bioquímicos, metabólicos, moleculares e suplementação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.15, p.392-397, 2009.

- CURI, R. Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte. Rio de Janeiro: **Sprint**, p.261, 2000.
- CURI, R.; LAGRANHA, C.J.; DOI, S.Q. et al. Molecular mechanisms of glutamine action. **Journal of Cellular Physiology**, v.204, p.392-401, 2005.
- DANIEL, J.F.; CAVAGLIERI, C.R. Efeitos da suplementação crônica de glutamina sobre a performance de atletas de futebol da categoria juvenil. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v.13, p.55-64, 2005.
- DAI, S.F.; WANG, L.K.; WEN, A.Y. et al. Dietary glutamine supplementation improves growth performance, meat quality and colour stability of broilers under heat stress. **British Poultry Science**, v.50, p.333-340, 2009.
- DE MAIO, A. Heat shock proteins. Facts, thoughts, and dreams. **Shock**, v.11, p.1-12, 1999.
- DIONELLO, N.J.L.; FERRO, J.A.; MACARI, M. et al. Efeito do estresse térmico agudo sobre os níveis da proteína e rna mensageiro da HSP70, em fígado e cérebro de pintos de corte de diferentes linhagens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, p.1506-1513, 2001.
- DIONELLO, N.J.L.; MACARI, M.; FERRO, J.A. et al. Respostas fisiológicas associadas à termotolerância em pintos de corte de duas linhagens por exposição a altas temperaturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.79-85, 2002.
- DONKOH, A. Ambient temperature: a factor affecting performance and physiological response of broiler chickens. **International Journal of Biometeorology**, v.33, p.259-265, 1989.
- EBERHART, D.E.; WASHBURN, K.W. Variation in body temperature response of naked neck and normally feathered chickens to heat stress. **Poultry Science**, v.72, p.1385-1390, 1993.
- EHRENFRIED, J.A.; CHEN, J.; LI, J.; EVERS, B.M. Glutamine-mediated regulation of heat shock protein expression in intestinal cells. **Surgery**, v.118, p.352-357, 1995.
- FLANAGAN, S.W.; MOSELEY, P.L.; BUETTNER, G.R. Increased flux of free radicals in cells subjected to hyperthermia, detection by electron paramagnetic resonance spin trapping. **Febs Letters**, v.431, p.285-286, 1998.
- FLARING, U.B.; ROOYACKERS, O.E.; WERNERMAN, J. et al. Glutamine attenuates post-traumatic glutathione depletion in human muscle. **Clinical Science**, v.104, p.275-282, 2003.
- FRANCISCO, T.D.; PITHON-CURI, T.C.; CURI, R. et al. Glutamina: metabolismo, destinos, funções e relação com o exercício físico. **Arquivo de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v.6, p.81-88, 2002.
- FURLAM, R.L. Influência da temperatura na produção de frangos de corte. In: VII SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 2006, Chapecó. **Anais...** Chapecó, p.104-135, 2006.
- FURST, P.; ALTEHELD, B.; STEHLE, P. Why should a single nutrient-glutamine-improve outcome? The remarkable story of glutamine dipeptides. **Clinical Nutrition Supplements**, v.1, p.3-15, 2004.

- GABAI, V.L.; SHERMAN, M.Y. Interplay between molecular chaperones and signaling pathways in survival of heat shock. **Journal Apply Physiology**, v.92, p.1743-1748, 2002.
- GABRIEL, J.E.; GUERREIRO, E.N.; SILVA, M.M. et al. Padrão de expressão da proteína de choque térmico de 70 kDa (HSP70) em aves selecionadas e não selecionadas submetidas a um estresse calórico agudo. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Curitiba. **Anais...** Campinas: FACTA, p.303-304, 1995.
- GIANOTTI, L.; ALEXANDER, J.W.; GENNARI, R. et al. Oral glutamine decreases bacterial translocation and improves survival in experimental gutorigin sepsis. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v.19, p.69-74, 1995.
- JAYAKUMAR, J.; SUZUKI, K.; SAMMUT, I.A. et al. Heat shock protein 70 gene transfection protects mitochondrial and ventricular function against ischemia-reperfusion injury. **Circulation**, v.104, p.1303-1309, 2001.
- KHAN, J.; LIBOSHI, L.; CUI, L. et al. Alanil-glutamine supplemented parenteral nutrition increase luminal mucus gel and decreases permeability in the rat small intestine. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v.23, p.24-31, 1999.
- KIANG, J.G.; TSOKOS, G.C. Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. **Pharmacology & Therapeutics**, v.80, p.183-201, 1998.
- KUBO, T.; TAMURA, Y.; TAKAHASHI, K. et al. Expressions of heat shock proteins under heat-stress and interferon-treatment: An in vitro study on osteosarcoma. **Pathophysiology**, v.3, p.233-239, 1996.
- LEE, A.S. The ER chaperone and signaling regulator GRP78/BiP as a monitor of endoplasmic reticulum stress. **Methods**, v.35, p.373-381, 2005.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**; traduzido por SIMÕES, A.A.; LODI, W.R.N. 2ª edição. São Paulo: SARVIER, p.830, 1995.
- LINDEMANN, G.; GROHS, M.; STANGE, E.F. et al. Limited heat-shock protein 72 induction in Caco-2 cells by L-glutamine. **Digestion**, v.64, p.81-86, 2001.
- LOBLEY, G.E.; HOSKIN, S.O.; MCNEIL, C.J. Glutamine in animal science and production. **Journal Nutrition**, v.131, p.255S-2531S, 2001.
- LORA, J.; ALONSO, F.J.; SEGURA, J.A. et al. Antisense glutaminase inhibition decreases glutathione antioxidant capacity and increases apoptosis in Ehrlich ascitic tumour cells. **European Journal of Biochemistry**, v.271, p.4298-306, 2004.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L.; MAIORKA, A. Aspectos fisiológicos e de manejo para manutenção da homeostase térmica e controle de síndromes metabólicas. In: Mendes, A.A.; Nääs, I.A.; Macari, M. (Eds.). **Produção de frangos de corte**. 1.ed. Campinas: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, p.137-155, 2004.
- MACLENNAN, P.A.; SMITH, K.; WERYK, B. et al. Inhibition of protein breakdown by glutamine in perfused rat skeletal muscle. **Febs Letters**, v.237, p.133-136, 1988.

- MAIORKA, A.; FISCHER, S.A.V.; SANTIN, E. et al. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, p.487-490, 2000.
- MAIORKA, A. Efeitos da idade da matriz, do jejum, da energia da ração e da glutamina sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte. Jaboticabal, p.103. **Tese (Doutorado em Zootecnia)**. Universidade Estadual Paulista, 2002.
- MATÉS, J.M.; SEGURA, J.A.; CAMPOS-SANDOVAL, J.A. et al. Glutamine homeostasis and mitochondrial dynamics. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.41, p.2051-2061, 2009.
- MARLISS, E.B.; AOKI, T.T.; POZEFSKY, T. et al. Muscle and splanchnic glutamine and glutamate metabolism in post absorptive and starved man. **Journal of Clinical Investigation**, v.50, p.814- 817, 1971.
- MORRISON, A.L.; DINGES, M.; SINGLETON, K.D. et al. Glutamine's protection against cellular injury is dependent on heat shock factor-1. **Journal Physiology - Cell Physiology**, v.290, p.1625-1632, 2006.
- MUJAHID, A.; YOSHIKI, Y.; AKIBA, Y. et al. Superoxide radical production in chicken skeletal muscle induced by acute heat stress. **Poultry Science**, v.84, p. 307-314, 2005.
- MUJAHID, A.; SATO, K.; AKIBA, Y. et al. Acute heat stress stimulates mitochondrial superoxide production in broiler skeletal muscle, possibly via downregulation of uncoupling protein content. **Poultry Science**, v.85, p.1259-1265, 2006.
- NEWSHOLME, P.; NEWSHOLME, E.A. Rates of utilization of glucose, glutamine and oleate and formation of end-products by mouse peritoneal macrophages in culture. **Journal Biochemistry**, v.261, p.211-8, 1989.
- NEWSHOLME, P.; LIMA, M.M.R.; PROCOPIO, J. et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, p.153-163, 2003a.
- NEWSHOLME, P.; PROCOPIO, J.; LIMA, M.M.R. et al. Glutamine and glutamate – their central role in cell metabolism and function. **Cell Biochemistry and Function**, v.21, p.1-9, 2003b.
- NOLLEN, E.A.A.; BRUNSTING, J.F.; SONG, J. et al. Bag1 functions in vivo as a negative regulator of HSP70 chaperone activity. **Molecular and Cellular Biology**, v.20, p.1083-1088, 2000.
- NORUP, L.R.; JENSEN, K.H.; JORGENSEN, E. et al. Effect of mild heat stress and mild infection pressure on immune responses to an E. coli infection in chickens. **Animal**, v.2, p.265-274, 2008.
- OLIVEIRA NETO, A.R.; OLIVEIRA, R.F.M.; DONZELE, J.L. et al. Efeito da temperatura ambiente sobre o desempenho e características de carcaça de frangos de corte alimentados com dieta controlada e dois níveis de energia metabolizável. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.183-190, 2000.
- OLIVEIRA NETO, A.R.; OLIVEIRA, W.P. Aminoácidos para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38 (Supl), p.205-208, 2009.

- PENG, Z.Y; SERKOVA, N.J; KOMINSKY, D.J. et al. Glutamine-mediated attenuation of cellular metabolic dysfunction and cell death after injury is dependent on heat shock factor-1 expression. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v.30, p.373-379, 2006.
- RENNIE, M.J; BOWTELL, J.L.; BRUCE, M. et al. Interaction between glutamine availability and metabolism of glycogen, tricarboxylic acid cycle intermediates and glutathione. **Journal of Nutrition**, v.131, p.2488S-2490S, 2001.
- ROGERO, M.M.; TIRAPEGUI, J.O. Considerações nutricionais e bioquímicas da suplementação de glutamina em atletas: controvérsias e aspectos atuais. **Journal Metabolic Nutrition**, v.7, p.106-17, 2003.
- ROTH, E.; OEHLER, R.; MANHART, N. et al. Regulative potencial of glutamine-relation to glutathione metabolism. **Nutrition**, v.8, p.217–221, 2002.
- ROWBOTTOM, D.G.; KEAST, D.; MORTON, A.R. The emerging role of glutamine as an indicator of exercise stress and overtraining. **Sports Medicine**, v.21, p.80-97, 1996.
- SAHIN, K.; KUÇUK, O.; SAHIN, N. et al. Effects of vitamin C and vitamin E on lipid peroxidation, status, serum hormones, metabolite and mineral concentrations of japanese quails reared under heat stress (34°C). **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v.72, p.91-100, 2002.
- SAHIN, K.; SAHIN, N.; KUÇUK, O. Effects of chromium and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolities, and antioxidant status of broiler chickens reared at a high environmental temperature (32°C). **Nutrition Research**, v.23, p.225-238, 2003.
- SALEHIAN, B.; MAHABADI, V.; BILAS, J. et al. The effect of glutamine on prevention of glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy is associated with myostatin suppression. **Metabolism Clinical and Experimental**, v.55, p.1239-1247, 2006.
- SANDERS, M.M.; KON, C. Glutamine is a powerfull effector of heat shock protein expression in drosophila Kc cells. **Journal of Cellular Physiology**, v.146, p.180-190, 1991.
- SANTOS, R.V.T.; CAPERUTO, E.C.; COSTA ROSA, L.F.B.P. Effects of acute exhaustive physical exercise upon glutamine metabolism of lymphocytes from trained rats. **Life Science**, v.80, p.573-8, 2007.
- SARTORI, J.R.; GONZALES, E.; MACARI, M. et al. Tipos de fibras musculares no músculo flexor do hálux de frangos de corte submetidos ao estresse pelo calor e frio e alimentados em “pair-feeding”. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, p.918-925, 2003.
- SCHOONEN, W.G.; WANAMARTA, A.H.; VAN DER KLEI-VAN MOORSEL.; J.M. Et al. Respiratory failure and stimulation of glycolysis in chinese hamster ovary cells exposed to normobaric hyperoxia. **The Journal of Biological Chemistry**, v.265, p.1118-1124, 1990.
- SINGLETON, K.; SERKOVA, N.; BANERJEE, A. et al. Glutamine attenuates endotoxin-induced lung metabolic dysfunction: potential role of enhanced heat shock protein 70. **Nutrition**, v.21, p.214-223, 2005.

- SINGLETON, K.D.; WISCHMEYER, P.E. Glutamine protection against sepsis and lung injury is dependent on heat shock protein 70 expression. **American Journal Physiology**, v.292, p.1839-45, 2007.
- SIEGEL, H.S. Stress, strains and resistance. **British Poultry Science**, v.36, p.3–12, 1995.
- SIQUEIRA, J.C.; OLIVEIRA, R.F.M.; DONZELE, J.L. et al. Níveis de lisina digestível da ração e temperatura ambiente para frangos de corte em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.2054-2062, 2007.
- SMITH, R.J. Glutamine Metabolism and its physiologic importance. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v.14, p.40-44, 1990.
- SOUBA, W.W.; SMITH, R.J.; WILMORE, D.W. Glutamine metabolism by the intestinal tract. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v.9, p.608-617, 1985.
- SOUBA, W.W.; HERSKOWITZ, K.; SALLOUM, R.M. et al. Gut glutamine metabolism. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition** v.14(4), p.45S-50S, 1990.
- SOUBA, W.W. Glutamine: A key substrate for the splanchnic bed. **Annual Review of Nutrition**, v.11, p.285-308, 1991.
- TAHAKASHI, K. Nutritional control of inflammatory responses in broiler chicken. **Journal of Integrated Field Science**, v.3, p.1-7, 2006.
- TANKSON, J.D.; VIZZIER-THAXTON, Y.; THAXTON, J.P. et al. Stress and nutritional quality of broilers. **Poultry Science**, v.80, p.1384–1389, 2001.
- TISCHLER, M.E. Is regulation of proteolysis associated with redox-state changes in rat skeletal muscle? **Journal Biochemistry**, v.192, p.963-966, 1980.
- UNNO, N.; WANG, H.; MENCONI, M.J. et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase ameliorates endotoxin- induced gut mucosal barrier dysfunction in rats. **Gastroenterology**, v.113, p.1246–1257, 1997.
- VALENCIA, E.; MARIN, A.; HARDY, G. Impact of L-glutamine on glutathione, glutamine and glutamate in blood levels in volunteers. **Nutrition**, v.18, p.367-370, 2002.
- VAZ, R.G.M.V.; OLIVEIRA, R.F.M.; DONZELE, J.L. et al. Níveis de cromo orgânico em rações para frangos de corte mantidos sob estresse por calor no período de um a 42 dias de idade. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.484-490, 2009.
- WANG, S.J.; CHEN, H.W.; HUANG, M.H. et al. Previous heat shock facilitates the glutamine-induced expression of heat-shock protein 72 in septic liver. **Nutrition**, v.23, p.582-588, 2007.
- WELCH, W.J. Mammalian stress response: cell physiology, structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease. **Physiology Reviews**, v.72, p.1063-1081, 1992.
- WISCHMEYER, P.E.; MADELYN, K.; WOLFSON, R. et al. Glutamine induces heat shock protein and protects against endotoxin shock in the rat. **Journal of Applied Physiology**, v.90, p.2403-2410, 2001.

- WISCHMEYER, P.E. Glutamine and heat shock protein expression. **Nutrition**, v.18, p.225-228, 2002.
- WRAY, C.J.; MAMMEN, J.M.V.; HASSELGREN, P. Catabolic response to stress and potential benefits of nutrition support. **Nutrition**, v.18, p.971-7, 2002
- YAHAV, S.; SHINDER, D.; TANNY, J. et al. Sensible heat loss: the broiler's paradox. **World's Poultry Science Journal**, v.61, p.419-434, 2005.
- YUNianto, V.D.; HAYASHI, K.; KANEDA, A. et al. Effect of environmental temperature on muscle protein turnover and heat production in tube-fed broiler chickens. **British Journal of Nutrition**, v.77, p.897-909, 1997.
- ZHOU, X.; THOMPSON, J.R. Regulation of protein turnover by glutamine in heat-shocked skeletal myotubes. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1357, p.234-242, 1997.
- ZHOU, J.; LI, Y.; LIU, F. et al. Tumor necrosis factor α attenuates glutamine-enhanced skeletal muscle protein synthesis in rats. **Nutrition Research**, v.27, p.772-777, 2007.
- ZULKIFLI, I.; AL-AQIL, A.; OMAR, A.R. et al. Crating and heat stress influence blood parameters and heat shock protein 70 expression in broiler chickens showing short or long tonic immobility reactions. **Poultry Science**, v.88, p.471-476, 2009.
- ZUO, L.; CHRISTOFI, F.L.; WRIGHT, V.P. et al. Intra and extracellular measurement of reactive oxygen species produced during heat stress in diaphragm muscle **American Journal of Physiology - Cell Physiology**, v.279, p.1058-1066, 2000.

CAPÍTULO 1

Níveis de glutamina em rações para frangos de corte mantidos em ambiente de alta temperatura dos 21 aos 42 dias de idade

RESUMO – Foram utilizados 168 frangos de corte, machos, da linhagem Cobb[®], no período de 21 aos 42 dias de idade distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos (níveis de glutamina), sete repetições e seis aves por unidade experimental. Os níveis de glutamina nas rações experimentais foram: 0,00; 0,50; 1,00 e 1,50%. Foram avaliados: desempenho, rendimentos de carcaça, de peito, de coxa, e de sobrecoxa e a expressão do mRNA da proteína HSP70. Os frangos com 21 dias de idade e com peso inicial de $987 \pm 3,05$ g, foram alojados em câmaras climáticas com temperatura de $31,3 \pm 0,66^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $69 \pm 6,12\%$ que resultaram em um ITGU calculado de $82,9 \pm 1,80$, caracterizando um ambiente de alta temperatura. O consumo de ração (CR) dos frangos de corte variou de forma quadrática, em função dos níveis de glutamina da ração que aumentou até o nível estimado de 0,60%. De forma similar ao consumo de ração, o ganho de peso (GP) das aves também aumentou de forma quadrática até o nível estimado de 0,66% de glutamina. Os níveis de glutamina não influenciaram a conversão alimentar (CA) das aves. Não se observou efeito dos níveis de glutamina nos pesos absolutos e nos rendimentos de carcaça, de peito, de coxa e de sobrecoxa das aves. Verificou-se aumento significativo da expressão do mRNA da proteína HSP70 nas aves suplementadas com 1,50% de glutamina na ração. Conclui-se que a inclusão da glutamina na ração teve efeito positivo nas aves mantidas em ambiente de alta temperatura, com o nível estimado de 0,66% proporcionando o melhor resultado de ganho de peso.

Palavras chaves: ambiente térmico, desempenho, estresse,

Glutamine levels in diets for broilers kept at high environmental temperature from 21 to 42 days

ABSTRACT – We used 168 broilers, males, Cobb[®], from 21 to 42 days allotted to completely randomized design with four treatments (levels of glutamine), seven replicates of six birds each. Glutamine levels in experimental diets were: 0,00, 0,50, 1,00 and 1,50%. Were evaluated: performance, carcass, breast, thigh and drumstick and mRNA expression of HSP70 protein. The chickens 21 days old and initial body weight of $987 \pm 3,05$ g were housed in environmental chambers with temperature of $31,3 \pm 0,66^{\circ}\text{C}$ and relative humidity of $69 \pm 6,12\%$ which resulted in a calculated BGT $82,9 \pm 1,80$, featuring a high temperature environment. The feed intake (FI) of broiler chickens in a quadratic way, depending on the levels of glutamine to the diet increased up to the level of 0,60%. Similar to feed intake, weight gain (WG) of the birds also increased quadratically up to the level of 0,66% glutamine. Glutamine levels did not affect feed conversion (FC) of the birds. There was no effect of glutamine levels in absolute weights and carcass, breast, thigh and drumstick of birds. There was significant increase in mRNA expression of the protein HSP70 in birds supplemented with 1,50% of glutamine in the diet. It is concluded that the inclusion of glutamine in the diet had a positive effect in birds kept at high environmental temperature, at an estimated level of 0,66% providing the best performance result.

Keywords: performance, stress, thermal environment

Introdução

O Brasil é um país de clima tropical, onde a maioria das regiões tem médias de altas temperaturas o ano todo. Aves submetidas às altas temperaturas apresentam redução do consumo de alimento, do ganho de peso e piora de rendimento, o que conseqüentemente, influencia negativamente o desempenho das mesmas (Laganá et al., 2005). Por isso, o ambiente térmico em que as aves são criadas deve ser considerado em razão das possíveis perdas que podem ser geradas na produção.

Inúmeras pesquisas têm sido desenvolvidas para amenizar os efeitos negativos causados pelo ambiente de alta temperatura no desempenho de frangos de corte. Como é oneroso resfriar as instalações em que os animais são alojados, muitos métodos estão focados em manipulação dietética (Tankson et al., 2001; Sahin et al., 2003). A suplementação com aminoácidos têm sido adotada para melhorar o desempenho dos animais submetidos ao estresse por calor. No entanto, pouca informação está disponível sobre os efeitos da suplementação dietética com aminoácido no desempenho e características de carcaça.

Tradicionalmente considerado um aminoácido não essencial, a glutamina (Gln) parece ser agora um nutriente condicionalmente essencial quando as aves são submetidas a um estresse, e pode ser uma alternativa em potencial por melhorar a resposta ao estresse, visto que aumenta a expressão da proteína do choque térmico (HSP) (Ehrenfried et al., 1995; Wischmeyer, 2002). Quando o organismo está sob estresse, os níveis de glutamina intracelulares podem cair em mais de 50 por cento, e a concentração de glutamina no plasma sanguíneo pode cair até 30 por cento (Askanazi et al., 1980). No entanto, sob certas circunstâncias patológicas, tais como infecção e trauma, estresse em geral determinados tecidos do corpo pode necessitar de mais glutamina do que a quantidade fornecida pela dieta. Dessa forma, nestas circunstâncias a suplementação com glutamina pode-se tornar necessária (Souba, 1991; Newshlome, 2001).

Diversas pesquisas realizadas com animais sob condições de estresse constataram que a suplementação com glutamina melhora a sobrevivência, melhora a função imune e inibe a atrofia da mucosa intestinal (Souba, 1991; Gianotti et al., 1995). A glutamina aumenta a expressão de proteína de choque térmico (HSP70), que é muito importante para a proteção contra danos nos tecidos durante períodos de estresse ou lesão (Singleton et al., 2005).

Assim, este estudo foi proposto para avaliar os efeitos de níveis de glutamina na ração no desempenho e carcaça de frangos de corte machos submetidos ao estresse por calor dos 21 aos 42 dias de idade.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bioclimatologia Animal do Departamento de Zootecnia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

Foram utilizados 168 frangos de corte machos sexados da linhagem Cobb[®], vacinados contra as doenças de Marek e Bouda aviária no período de 21 aos 42 dias de idade. As aves foram mantidas em câmaras climáticas com temperatura constante (32°C) e umidade relativa entre 60 e 70%.

Até os 21 dias, as aves foram criadas em galpão convencional e manejadas conforme o manual de criação da linhagem (Cobb, 2008). Neste período (1 a 21 dias de idade) as aves receberam ração com 3.100 kcal/kg de energia metabolizável (EM), formulada para satisfazer suas exigências nutricionais, conforme preconizado por Rostagno et al. (2005).

No 21º dia de idade, os frangos, com peso inicial de $987,0 \pm 3,05$ g, foram transferidos para as câmaras climáticas, quando teve início o período experimental.

As aves foram alojadas em baterias de gaiolas metálicas (0,85 x 0,85 m) providas de comedouro e bebedouro tipo calha e distribuídas em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (ração basal e três níveis de glutamina), sete repetições e seis aves por unidade experimental. A unidade experimental foi representada pela gaiola.

As condições ambientais no interior das salas, temperatura e umidade relativa do ar, foram monitoradas e registradas diariamente, duas vezes ao dia (07h00 e 18h00), por meio de termômetros (bulbo seco, bulbo úmido e de globo negro) mantidos no centro das salas. Posteriormente, estes dados foram convertidos no Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU), conforme proposto por Buffington et al. (1981), para a caracterização do ambiente.

O programa de luz adotado durante o período experimental foi o contínuo (24 horas de luz artificial), utilizando lâmpadas fluorescentes.

Os tratamentos (Tabela 1) consistiram de: uma ração basal, com 3.000 kcal/kg de EM formulada para atender as exigências das aves na categoria estudada, segundo Rostagno et al. (2005); e de três rações com níveis de 0,50; 1,00 e 1,50% de glutamina. Os níveis de glutamina foram obtidos pela adição de L-glutamina na ração em substituição ao amido.

O fornecimento das rações experimentais e de água às aves foi à vontade durante o período experimental, sendo a água trocada três vezes ao dia.

Para avaliação do desempenho (consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar) as aves e as rações fornecidas foram pesadas no início e no final do período experimental e as sobras de ração no final do período.

O consumo de ração das aves no período de 21 aos 42 dias de idade foi calculado por diferença entre a quantidade de ração fornecida, os desperdícios e as sobras das rações experimentais. O ganho de peso, das aves foi determinado pela diferença entre o peso das aves no início e no final do período avaliado. A partir dos dados de consumos de ração e de ganhos de peso, foram calculadas as conversões alimentares dos animais, em cada tratamento.

Ao final do período experimental (42º dia), os frangos foram pesados e duas aves de cada unidade experimental, com pesos mais próximos da média da gaiola (10% acima ou abaixo da média), foram submetidas a jejum alimentar de 12 horas. Após esse período, essas aves foram insensibilizadas por atordoamento elétrico e posteriormente abatidas por sangria mediante corte da artéria jugular. Depois de sangradas, depenadas e evisceradas, as carcaças foram pesadas para avaliação do rendimento de cortes nobres (peito, coxa e sobrecoxa).

Para a determinação do rendimento de carcaça foi considerado o peso vivo após o jejum. Na determinação dos rendimentos de cortes nobres foi considerado o peso da carcaça. E dentro de cada tratamento, outras três aves, com pesos subsequentes mais próximos da média do respectivo tratamento ($\pm 10\%$), foram abatidas para determinação da expressão de mRNA para a proteína do choque térmico de 70 kD (HSP70), no músculo *Pectoralis major*. As aves foram insensibilizadas, sangradas e tiveram a pele da região peitoral retirada. Imediatamente após esse processo, com o uso de um bisturi foi coletado uma amostra de aproximadamente 2,0 cm de comprimento, 0,5 cm de largura e 0,5 cm de profundidade, do músculo *Pectoralis major* direito, na região central da peça muscular. Imediatamente após a coleta, as amostras foram identificadas e imersas em

Tabela 1 – Composições centesimal e calculada das rações experimentais

Ingredientes (%)	Níveis de glutamina (%)			
	Basal	0,50	1,00	1,50
Milho	58,682	58,682	58,682	58,682
Farelo de soja	32,155	32,155	32,155	32,155
Óleo vegetal	3,565	3,565	3,565	3,565
Fosfato bicálcico	1,655	1,655	1,655	1,655
Calcário	0,844	0,844	0,844	0,844
Sal comum	0,471	0,471	0,471	0,471
Mistura vitamínica ¹	0,200	0,200	0,200	0,200
Mistura mineral ²	0,200	0,200	0,200	0,200
Anticoccidiano ³	0,050	0,050	0,050	0,050
BHT ⁴	0,010	0,010	0,010	0,010
Cloreto de colina ⁵	0,125	0,125	0,125	0,125
Avilamicina ⁶	0,010	0,010	0,010	0,010
DL-metionina (99%)	0,227	0,227	0,227	0,227
L-lisina HCL (78%)	0,168	0,168	0,168	0,168
L- treonina (98,5%)	0,038	0,038	0,038	0,038
Amido	1,600	1,100	0,600	0,100
L-Glutamina	0,000	0,500	1,000	1,500
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição calculada				
Proteína bruta (%)	19,743	20,343	20,943	20,643
Energia metab. (kcal/kg)	3,100	3,100	3,100	3,100
Lisina digestível (%)	1,073	1,073	1,073	1,073
Met + cis digestíveis (%)	0,773	0,773	0,773	0,773
Treonina digestível (%)	0,698	0,698	0,698	0,698
Triptofano digestível (%)	0,215	0,215	0,215	0,215
Valina digestível (%)	0,826	0,826	0,826	0,826
Isoleucina digestível (%)	0,770	0,770	0,770	0,770
Arginina digestível (%)	1,241	1,241	1,241	1,241
Leucina digestível (%)	1,605	1,605	1,605	1,605
Fenil.+tir.digestíveis (%)	1,521	1,521	1,521	1,521
Glicina + serina total (%)	1,782	1,782	1,782	1,782
Sódio (%)	0,205	0,205	0,205	0,205
Cálcio (%)	0,824	0,824	0,824	0,824
Fósforo Disponível (%)	0,411	0,411	0,411	0,411

¹Conteúdo/kg: vit. A - 20.000.000 UI, vit. D3 -5.000.000.000 UI, vit. E - 40.500 UI, vit. B1 – 3.000 mg, vit. B2 - 12,0 g - vit. B6 – 5000 mg - vit. B12 – 28.000 mcg - biotina 60 mg - niacina 87 g - ácido pantotênico - 29 g, vit. K3 – 4.600 mg, ácido fólico – 1.600 mg - 10 g, selênio - 250 mg, antioxidante BHT – 5.000 mg e veículo q.s.p. - 1.000 g.

²Conteúdo/kg: manganês, 156 g; ferro, 96 g; zinco, 110 g; cobre, 20 g; cobalto, 2 g; iodo, 1400 mg; e veículo q.s.p. 1.000 g.

³Salinomicina sódica – 60 ppm.

⁴Hidroxi-butil-tolueno.

⁵Cl-colina – 43,5 mg de colina.

⁶Avilamicina 10%.

RNA holder (BioAgency) para conservar a integridade do mRNA, sendo armazenadas em freezer, a -20°C , até o momento da extração. O mRNA total de cada amostra foi extraído utilizando-se o kit *RNeasy Mini Kit* (Qiagen) seguindo-se as recomendações do fabricante. Determinou-se a concentração do mRNA total utilizando o espectrofotômetro Nano Vue Plus (GE Healthcare). A integridade do RNA foi avaliada utilizando gel de agarose a 1% e visualizado por meio da luz ultravioleta. O cDNA foi sintetizado utilizando o kit SuperScriptTM III First-Strand Synthesis Super Mix (Invitrogen). Foram adicionados 6 microlitros do mRNA total, 1 μL de oligo (dT) (50 μM oligo(dT)₂₀ e 1 μL de *annealing buffer*. A mistura foi incubada por 5 minutos a 65°C e em seguida, colocada no gelo por 1 minuto. Subsequentemente, foram adicionados 10 μL de 2x First-Strand Reaction Mix solution e 2 μL da enzima SuperScript III reverse transcriptase. As amostras foram estocadas a -20°C até a análise.

As sequências dos genes foram obtidas no website www.ncbi.nlm.nih.gov. Os primers foram desenhados de acordo com as sequências contidas em GeneBank, usando o website www.idtdna.com.

As sequências de nucleótideos dos primers estão resumidas na Tabela 2.

Foram testados dois controles endógenos, os genes β -actina e GAPDH. Foi utilizado o gene da β -actina como controle endógeno porque houve menor variação em relação ao GAPDH, quando utilizado o programa GeNorm.(Vandesompele et al., 2002).

Todos os ensaios foram realizados em um volume final de 25 μL e em duplicata. Foi utilizado para a PCR em tempo real, o composto fluorescente. SYBR® Green PCR Master Mix (Qiagen).

As condições de amplificação para todos os sistemas foram: 95°C durante 2 minutos, 40 ciclos de desnaturação a 95°C durante 15 segundos, e de extensão e anelamento a 60°C durante 60 segundos. As eficiências de amplificação representaram cerca de 100% em cada ciclo, e a expressão relativa foi calculada utilizando uma equação para corrigir diferenças de eficiência, como descrito por Pfaffl et al. (2001). Foram utilizadas as seguintes concentrações: para ambos os genes, β -actina e HSP70, foram utilizados uma concentração de 400 nM e de 50 nM de cDNA. A amplificação de genes-alvo foi realizada em poços diferentes e em duplicatas.

Tabela 2 - Sequência dos primers HSP70, β -actina e GAPDH

Genes	Sequencia 5'→ 3'
HSP70 (NM_001006685)	FP: CGTGACAATGCTGGCAATAAGCGA RP: TCAATCTCAATGCTGGCTTGCGTG
β -actina (NM_205518)	FP: AGACATCAGGGTGTGATGGTTGGT RP: TCCCAGTTGGTGACAATACCGTGT
GAPDH (NM_204305)	FP: CCCAGCAACATCAAATGGGCAGAT RP: TGATAACACGCTTAGCACCACCT

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três amostras por tratamento. Inicialmente, os dados em tempo real de PCR foram analisados utilizando o modelo linear misto, descrito abaixo.

$$y_{ijk} = GP_{ik} + D_{ijk} + e_{ijk}$$

Onde: y_{ijk} quantifica o nível de expressão do gene i no animal j no tratamento k ; GP_{ik} é o efeito do gene i no tratamento k ; D_{ijk} é o efeito específico da amostra aleatória (comum a ambos os genes), $D_{ijk} \sim N(0, \sigma^2_D)$; e e_{ijk} é o erro aleatório, $e_{ijk} \sim N(0, \sigma^2_e)$.

As variáveis avaliadas foram o consumo de ração, o ganho de peso, a conversão alimentar, o peso absoluto e o rendimento da carcaça e de cortes nobres (peito, coxa e sobrecoxa) e a expressão do mRNA da proteína HSP70.

As análises estatísticas das variáveis de desempenho e carcaça foram realizadas pelo programa computacional SAEG (Sistema para Análises Estatísticas), desenvolvido na Universidade Federal de Viçosa – UFV (2003), por meio de modelos de regressão, utilizando o nível de significância de 10%, em ambos os experimentos.

Os procedimentos estatísticos para a análise da expressão do mRNA da proteína HSP70 foram realizados utilizando SAS 9.0 para Windows (*Statistical Analysis System* Institute, Inc., Carry, NC, EUA). A rotina %QPCR_MIXED foi desenvolvida no SAS para analisar dados de PCR em tempo real. O PROC MIXED (Steibel et al, 2009) foi utilizado e para cada gene alvo, a comparação dos valores de expressão a partir do tratamento controle foi realizada por CONTRASTES no PROC GLM utilizando teste t de Student.

Independente do efeito da interação entre o ambiente térmico e o nível de glutamina, ser ou não significativa, optou-se pelo desdobramento dos dados.

Resultados e Discussão

Os valores de temperatura do ar de $31,3 \pm 0,66^{\circ}\text{C}$, temperatura de globo negro de $32,4 \pm 0,69^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $69 \pm 6,12\%$ durante o período experimental resultaram em ITGU calculado de $83 \pm 1,80$. Considerando que Medeiros et al. (2005) definiram que valores de ITGU entre 78 e 88 caracterizam ambiente de alta temperatura para frangos de corte entre a terceira e a sexta semana de vida, pode-se inferir que as aves deste estudo foram expostas a estresse por calor.

Os dados de desempenho das aves submetidas aos diferentes níveis de glutamina nas rações encontram-se na Tabela 3.

Os níveis de glutamina influenciaram ($P < 0,04$) o consumo de ração (CR) das aves submetidas ao estresse por calor, que aumentou de forma quadrática até o nível estimado de 0,60% (Figura 1). Resultados semelhantes foram encontrados por Dai et al. (2009 e 2011) que, conduzindo estudos com frangos de corte dos 35 aos 42 dias submetidos ao ambiente de alta temperatura, verificaram efeito positivo da inclusão de glutamina na ração na ingestão voluntária de alimentos pelas aves. Por outro lado, Souza et al. (2010) avaliando níveis de glutamina de 0 a 2% na ração no desempenho de frangos de corte, mantidos em ambiente de alta temperatura, de 1 aos 21 dias de idade, não constataram variação significativa no CR das aves. Tendo como base estes resultados, pode-se deduzir que o efeito negativo do alto nível de glutamina no CR dos frangos parece ser fase e nível dependente, com as aves na fase inicial de crescimento (1 a 21 dias de idade) sendo menos sensíveis.

Com os dados de consumo de ração obtidos neste estudo ficou evidenciado que níveis de glutamina acima de 0,60% podem influenciar negativamente o consumo voluntário de alimentos das aves. De forma consistente com este relato, Soltan (2009) avaliando níveis de glutamina de 0 a 2% em rações para frangos de corte, mantidos em ambiente de termoneutralidade, também verificaram piora no CR das aves que receberam as rações com níveis de glutamina acima de 1%.

Apesar da similaridade de resposta quanto aos efeitos negativos de níveis altos de glutamina no consumo voluntário de alimentos das aves observado entre os

Tabela 3 - Desempenho de frangos de corte recebendo rações com diferentes níveis de glutamina, mantidos em ambiente de alta temperatura dos 21 aos 42 dias de idade

Variável	Nível de glutamina (%)				P	CV (%)
	0,00	0,50	1,00	1,50		
Consumo de ração ¹ (g)	2393	2460	2441	2290	0,04	5,19
Ganho de peso ¹ (g)	1269	1356	1309	1235	0,03	6,88
Conversão alimentar (g/g)	1,89	1,81	1,86	1,85	0,05	2,98

¹Efeito quadrático.

trabalhos, foi constatado que quando as aves foram expostas ao ambiente de alta temperatura, o efeito na redução do consumo foi mais intenso, que quando mantidas em ambiente de termoneutralidade. Enquanto neste estudo a redução no CR, em valor absoluto, verificada entre os níveis de 1,0 e 1,5% de glutamina, foi de 6,2%, no de Soltan (2009), ela correspondeu a 4%.

O ganho de peso (GP) das aves também foi influenciado ($P < 0,03$) pelos níveis de glutamina que aumentou de forma quadrática até o nível estimado de 0,66% (Figura 2). Efeitos positivos da inclusão de glutamina na ração na taxa de crescimento de frangos de corte submetidos a estresse por calor, também foram observados por Dai et al. (2009 e 2011).

Levando em consideração o relato de Geraert et al. (1996) que o nível de corticosterona plasmático aumenta em frangos de corte desafiados por calor e considerando os efeitos negativos deste hormônio no ganho de peso das aves conforme observado por Lin et al. (2006), pode-se deduzir que os efeitos positivos da suplementação de glutamina na taxa de crescimento dos frangos obtidos neste trabalho, pode em parte estar relacionado ao seu possível efeito na diminuição do nível sérico de corticosterona. Esta hipótese tem como base o relato de Dai et al. (2011) que, avaliando a suplementação de glutamina e GABA (gama-aminobutírico) em rações para frangos de corte submetidos ao estresse por calor, verificaram que a inclusão de glutamina resultou em redução do nível sérico de corticosterona.

Os níveis de glutamina não influenciaram ($P > 0,10$) a conversão alimentar (CA) das aves. Estes resultados divergiram dos encontrados por Dai et al. (2009 e 2011) e por Souza et al. (2010), que ao avaliar níveis de glutamina em rações para frangos de corte submetidos a ambiente de alta temperatura, observaram efeito positivo da suplementação desse aminoácido na conversão alimentar das aves.

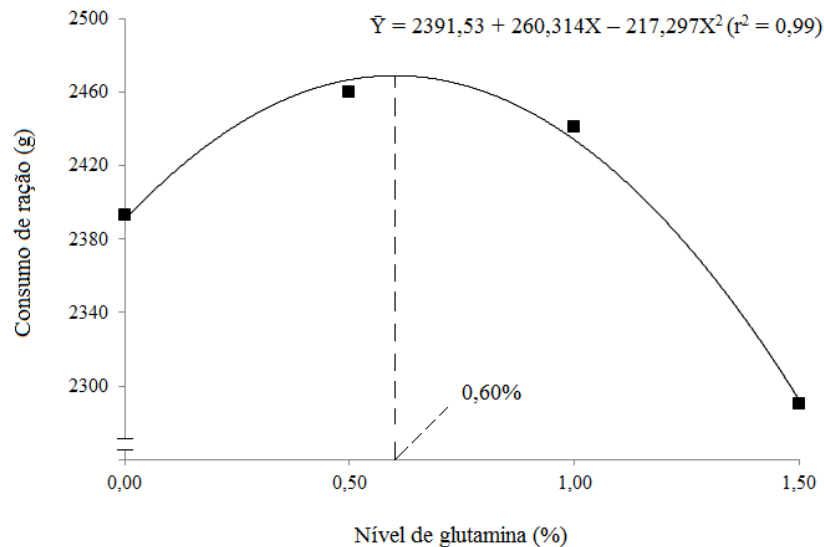


Figura 1 – Consumo de ração (g) de frangos de corte alimentados com rações com níveis crescentes de glutamina, mantidos em ambiente de alta temperatura, dos 21 aos 42 dias de idade.

Apesar de, neste estudo, a CA dos frangos não ter variado significativamente entre os tratamentos, foi observado que a inclusão de 0,50% de glutamina na ração proporcionou melhora de 4,23% no valor da conversão alimentar (1,89 x 1,81).

Esse efeito positivo da glutamina na eficiência de utilização do alimento para ganho de peso, observada nos trabalhos, pode estar relacionado, em parte, à sua ação positiva nas características estruturais do intestino de frangos de corte, melhorando a capacidade absorptiva e digestiva da mucosa intestinal. Estudo conduzido por Bartell & Batal (2007), confirmou os benefícios da inclusão de glutamina na morfometria intestinal com aumento na altura das vilosidades do duodeno e jejuno, resultando em maior área de superfície para utilização de nutrientes. Izat et al. (1989) propuseram que o aumento da altura de vilosidade melhora o desempenho dos frangos de corte em razão do aumento da absorção de nutrientes.

Com os dados de CA obtidos neste estudo, ficou evidenciado que a redução ocorrida no ganho de peso das aves no maior nível de glutamina (1,50%) ocorreu em razão direta do efeito negativo da glutamina no consumo de ração.

Os dados de carcaça e cortes nobres das aves submetidas aos diferentes níveis de glutamina nas rações encontram-se na Tabela 4.

Não se observou efeito ($P > 0,05$) dos níveis de glutamina nos pesos absolutos e no rendimento de carcaça, de peito, de coxa e de sobrecoxa das aves. De forma

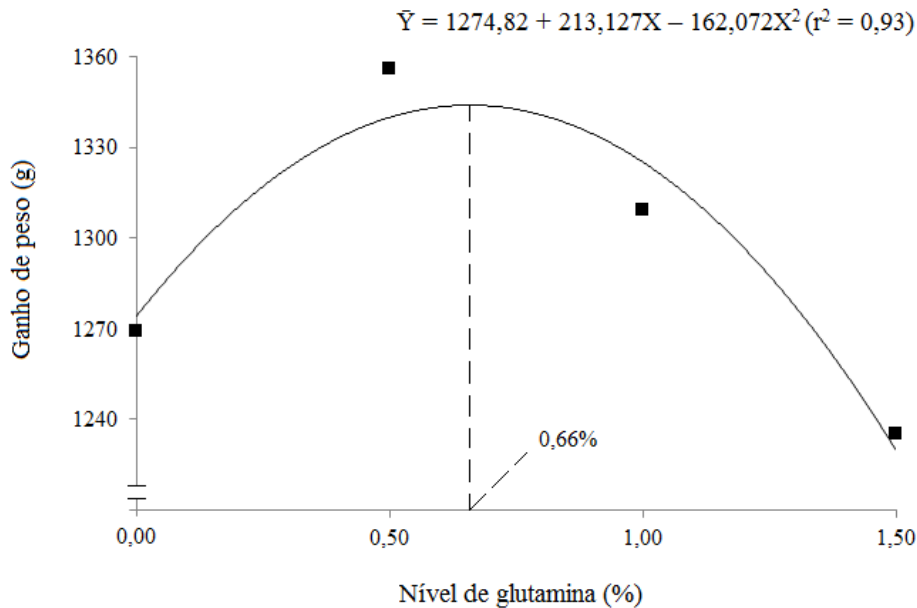


Figura 2 – Ganho de peso (g) de frangos de corte alimentados com rações com níveis crescentes de glutamina, mantidos em ambiente de alta temperatura, dos 21 aos 42 dias de idade.

similar Souza et al. (2010) também não constataram influência da suplementação de glutamina na ração no rendimento de carcaça e de corte nobres de frangos de corte desafiados por calor. Em contrapartida Dai et al. (2011), ao avaliar a influência da inclusão de glutamina na ração de frangos de corte submetidos a ambiente de alta temperatura, verificaram melhora no peso absoluto da carcaça e nos pesos absolutos e nos rendimentos de músculos de peito e de coxa.

Considerando que o aumento da massa muscular da carcaça resultaria em melhora da eficiência alimentar das aves, pode-se afirmar que os resultados de rendimento de cortes nobres obtidos neste estudo estão coerentes com os resultados de conversão alimentar que não variaram entre os tratamentos.

Os dados de expressão do mRNA da proteína HSP70 no músculo *Pectoralis major* das aves submetidas aos diferentes níveis de glutamina na ração encontram-se na Figura 3.

Os níveis crescentes de glutamina proporcionaram aumento gradativo na expressão do mRNA da proteína HSP70 no músculo *Pectoralis major* dos frangos, sendo que somente no nível 1,50%, a diferença foi significativa ($P < 0,0028$). Diferentes autores como Gabriel et al. (1995), Dionello et al. (2002), Zulkifli et al. (2009) e Hao et al. (2012), verificaram influência positiva da suplementação de

Tabela 4 - Peso absoluto e rendimento de carcaça e de cortes nobres das aves recebendo rações com diferentes níveis de glutamina, mantidas em ambiente de alta temperatura aos 42 dias de idade

Variáveis	Níveis de Glutamina (%) ¹				P	CV (%)
	0,00	0,50	1,00	1,50		
Peso Absoluto (g)						
Carcaça	1828	1857	1824	1822	0,05	5,87
Peito	606	613	614	602	0,05	6,15
Coxa	229	229	228	226	0,05	7,25
Sobrecoxa	283	276	276	275	0,05	8,46
Rendimento (%)						
Carcaça	85,70	85,60	86,14	85,70	0,05	1,42
Peito	32,94	33,25	32,70	32,98	0,05	3,06
Coxa	12,21	12,25	12,26	12,34	0,05	3,42
Sobrecoxa	15,07	14,98	15,16	14,94	0,05	4,41

¹Efeito não significativo.

glutamina na expressão do mRNA da proteína HSP70 em diferentes tecidos de frangos de corte exposto a ambiente de alta temperatura.

Considerando o relato de Zulkifli et al. (2009), que a mais importante função da HSP70 é a de proteção do organismo quanto ao efeito tóxico do calor, pode-se inferir que a inclusão de glutamina pelos seus efeitos na expressão desta proteína, melhora a termotolerância das aves. Nesse sentido, Givisiez et al. (1999) afirmaram haver uma relação positiva entre a termotolerância e a síntese da proteína HSP, em especial a HSP70.

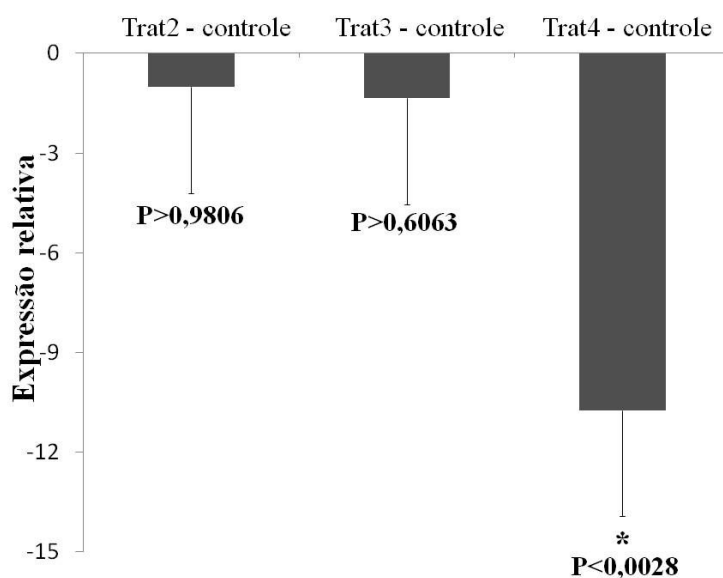


Figura 3 – Expressão relativa do mRNA da proteína do choque térmico (HSP70) no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte mantidos em ambiente de alta temperatura aos 42 dias de idade.

Além desse aspecto, estudo conduzido por Gu et al. (2012), evidenciou uma correlação negativa entre a expressão da HSP70 e o nível de corticosterona em frangos de corte estressados por calor, o que justificaria em parte a melhora observada no ganho de peso dos frangos neste estudo.

Com base nestes relatos, pode-se inferir que a expressão da HSP70 no músculo *Pectoralis major* seria dependente da suplementação de glutamina quando as aves são submetidas a desafios por alta temperatura.

Conclusão

O nível de 0,66% de glutamina na ração proporcionou melhor resultado de ganho de peso de frangos de corte, mantidos em ambiente de calor dos 21 aos 42 dias de idade.

Literatura Citada

- ASKANAZI, J.; CARPENTER, Y.A.; MICHELSEN, C.B. Muscle and plasma amino acids following injury: Influence of intercurrent infection. **Annals of Surgery**, v.192, p.78-85, 1980.
- BARTELL, S.M.; BATAL, A.B. The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broilers. **Poultry Science**, v.86, p.1940–1947, 2007.
- BUFFINGTON, D.E.; COLAZZO-AROCHO, A.; CANTON, G.H. et al. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. **Transaction of the ASAE**, v.24, p.711-714, 1981.
- COBB-VANTRESS. **Manual de manejo de frangos de corte cobb**. Guapiaçu, SP: Cobb-Vantress Brasil, 2008. 66p.
- DAI, S.F.; WANG, L.K.; WEN, A.Y. et al. Dietary glutamine supplementation improves growth performance, meat quality and colour stability of broilers under heat stress. **British Poultry Science**, v.50, p.333-340, 2009.
- DAI, S.F.; GAO, F.; ZHANG, W.H. et al. Effects of dietary glutamine and gamma-aminobutyric acid on performance, carcass Characteristics and serum parameters in broilers under circular heat stress. **Animal Feed Science and Technology**, v.168, p.51-60, 2011.
- DIONELLO, N.J.L.; MACARI, M.; FERRO, J.A. et al. Respostas fisiológicas associadas à termotolerância em pintos de corte de duas linhagens por exposição a altas temperaturas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.79-85, 2002.
- EHRENFRIED, J.A.; CHEN, J.; LI, J. et al. Glutamine-mediated regulation of heat shock protein expression in intestinal cells. **Surgery**, v.118, p.352–357, 1995.
- GABRIEL, J.E.; GUERREIO, E.N.; SILVA, M.M. et al. Padrão de expressão da proteína de choque térmico de 70 kDa (HSP70) em aves selecionadas e não selecionadas submetidas a um estresse calórico agudo. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, Curitiba. **Anais...** Campinas: FACTA, p.303-304, 1995.
- GERAERT, P.A.; PADILHA, J.C.; GUILLAUMIN, S. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heat exposure in broiler chickens: Growth performance, body composition, and energy retention. **British Journal Nutrition**, v.75, p.195-204, 1996.
- GIANOTTI, L.; ALEXANDER, J.W.; GENNARI, R. et al. Oral glutamine decreases bacterial translocation and improves survival in experimental gut-origin sepsis. **Journal Parenteral e Enteral Nutrition**, v.19, p.69–74, 1995.
- GIVISIEZ, P.E.N.; FERRO, J.A.; FERRO, M.I.T. et al. Hepatic concentration of heat shock protein 70kDa (Hsp 70) in broilers subjected to different thermal treatments. **British Poultry Science**, v.40, p.292-296, 1999.
- GU, X.H.; HAO, Y.; WANG, X.L. Overexpression of heat shock protein 70 and its relationship to intestine under acute heat stress in broilers: 1. Intestinal structure and digestive function¹. **Poultry Science**, vol.91, p.781-789, 2012.

- HAO, Y.; GU, X.H.; WANG, X.L. Overexpression of heat shock protein 70 and its relationship to intestine under acute heat stress in broilers: 2. Intestinal oxidative stress¹. **Poultry Science**, v.91, p.790-799, 2012.
- IZAT, A. L.; THOMAS, R.A.; ADAMS, M.H. Effects of dietary antibiotic treatment on yield of commercial broilers. **Poultry Science**, v.68, p.651–655, 1989.
- LAGANÁ, C.; RIBEIRO, A.M.L.; KESSLER, A.M.; SOUZA, E.N. Influência do nível nutricional da dieta no rendimento de órgãos e gordura abdominal em frangos estressados por calor. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.6, p.59-66, 2005.
- LIN, H.; SUI, S.J.; JIAO, H.C. et al. Impaired development of broiler chickens by stress mimicked by corticosterone exposure. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part A- p.400-405, 2006.
- MEDEIROS, C.M.; BAÊTA, F.C.; OLIVEIRA, R.F.M. et al. Efeito da temperatura, umidade relativa e velocidade do ar em frangos de corte. **Engenharia na Agricultura**, v.13, p.277-286, 2005.
- NEWSHOLME, P. Why is L-Glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? **Journal Nutrition**, v.131, p.2515S-2522S, 2001.
- PFÄFFL, M.W. A new mathematical model for relative quantification in real time RT-PCR. **Nucleic Acids Research**, v.29(9), p.45, 2001.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2 ed. Viçosa: UFV, Departamento de Zootecnia. p.186, 2005.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.1. Viçosa, MG, (Apostila). 2003.
- SAHIN, K.; SAHIN, N.; KUCUK, O. Effects of chromium, and ascorbic acid supplementation on growth, carcass traits, serum metabolites, and antioxidant status of broiler chickens reared at a high ambient temperature (32°C). **Nutrition Research**, v.23, p.225–238, 2003.
- SINGLETON, K.D.; SERKOVA, N.; BECKEY, V.E. et al. Glutamine attenuates lung injury and improves survival after sepsis: role of enhanced heat shock protein expression. **Critical Care Medicine**, v.33, p.1206-1213, 2005.
- SOLTAN, M.A. Influence of dietary glutamine supplementation on growth performance, small intestinal morphology, immune response and some blood parameters of broiler chickens. **Int. Journal Poultry Science**, v.8, p.60–68, 2009.
- SOUBA, W.W. Glutamine: a key substrate for the splanchnic bed. **Annual Review Nutrition**, v.11, p.285–308, 1991.
- SOUZA, L.F.A.; SOUZA, M.G.; MORITA, V.S. et al. Estresse térmico e suplementação de glutamina para frangos de corte. **Em 47ª Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia**. Salvador, BA. CDRom, 2010.

- STEIBEL, J.P.; POLETTI, R.; COUSSENS, P.M. et al. A powerful and flexible linear mixed model framework for the analysis of relative quantification RT-PCR data. **Genomics**, v.94, p.146–152, 2009.
- TANKSON, J.D.; VIZZIER-THAXTON, Y.; THAXTON, J.P. et al. Stress and nutritional quality of broilers. **Poultry Science**, v.80, p.1384–1389, 2001.
- VANDESOMPELE, J.; DE PRETER, K.; PATTYN, F. et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. **Genome Biology**, 3:RESEARCH0034, 2002.
- WISCHMEYER, P.E. Glutamine and heat shock protein expression. **Nutrition**, v.18, p.225–228, 2002.
- ZULKIFLI, I.; AL-AQIL, A.; OMAR, A.R. et al. Crating and heat stress influence blood parameters and heat shock protein 70 expression in broiler chickens showing short or long tonic immobility reactions. **Poultry Science**, v.88, p.471-476, 2009.

CAPÍTULO 2

Níveis de glutamina em rações para frangos de corte mantidos em termoneutralidade dos 21 aos 42 dias de idade

RESUMO – Foram utilizados 168 frangos de corte, machos, da linhagem Cobb[®], no período de 21 aos 42 dias de idade distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos (níveis de glutamina), sete repetições e seis aves por unidade experimental. Os níveis de glutamina nas rações experimentais foram: 0,00; 0,50; 1,00 e 1,50%. Foram avaliados: desempenho, rendimentos de carcaça, de peito, de coxa e de sobrecoxa e a expressão do mRNA da proteína HSP70. Os frangos com 21 dias de idade e com peso inicial de $900 \pm 4,71$ g, foram alojados em câmaras climáticas com temperatura de $23,2 \pm 1,77^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 5,82\%$ que resultou em ITGU calculado de $72 \pm 2,75$, caracterizando um ambiente de termoneutralidade. Não se observou efeito dos níveis de glutamina na ração nas variáveis de desempenho (consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar) das aves. Os níveis de glutamina na ração não influenciaram os pesos absolutos e os rendimentos de carcaça, de peito, de coxa e de sobrecoxa das aves. Com relação à expressão do mRNA da proteína HSP70 não se observou efeito dos níveis de glutamina suplementados na ração. Conclui-se que níveis de glutamina na ração não influenciaram o desempenho e características de carcaça de frangos de corte mantidos em ambiente termoneutro dos 21 aos 42 dias de idade.

Palavras chaves: ambiente térmico, aves, expressão

Glutamine levels in diets for broilers kept in thermoneutral 21 to 42 days

ABSTRACT – We used 168 broilers, males, Cobb[®], from 21 to 42 days allotted to completely randomized design with four treatments (levels of glutamine), seven replicates of six birds each. Glutamine levels in experimental diets were: 0,00, 0,50, 1,00 and 1,50%. Were evaluated performance, carcass, breast, thigh and drumstick and mRNA expression of HSP70 protein. The chickens 21 days old and initial body weight of $900 \pm 4,71$ g were housed in environmental chambers with temperature of $23,2 \pm 1,77^{\circ}\text{C}$ and relative humidity of $70 \pm 5,82\%$ which resulted in calculated BGT $72 \pm 2,75$, featuring a thermoneutral environment. There was no effect of glutamine levels in the diet on performance variables (feed intake, weight gain and feed conversion) of the birds. Glutamine levels in the diet did not influence the absolute weights and carcass, breast, thigh and drumstick of birds. With respect to the mRNA expression of HSP70 protein was not observed effect levels of glutamine supplementation in the diet. It is concluded that glutamine levels in the diet did not affect the performance and characteristics carcass of broilers kept in thermoneutral environment from 21 to 42 days old.

Keywords: birds, expression, thermal environment

Introdução

O Brasil ocupa atualmente a 3ª posição do ranking mundial de produção de carne de frango e é o maior exportador mundial, posições estas conquistadas com adoção de tecnologias ao longo das últimas décadas.

Com os progressos ocorridos nas áreas de genética, nutrição, manejo, ambiente e sanidade houve aumento considerável na velocidade de ganho de peso, redução da idade de abate e melhoria na conversão alimentar (Laganá, 2005). Entretanto, a capacidade termorreguladora do frango não evoluiu na mesma proporção, ficando deficiente para enfrentar os grandes desafios do ambiente térmico, principalmente o aumento da temperatura, refletindo em perdas econômicas para o produtor, com redução do consumo de ração e do ganho de peso (Lana et al., 2000; Laganá et al., 2005).

Segundo Curtis (1983), o estresse causado pelo ambiente térmico influencia a produtividade dos animais por alterar sua troca de calor com o meio, modificando o consumo de ração, o ganho de peso e, conseqüentemente, as exigências de nutrientes.

Alguns aditivos alimentares vêm sendo utilizados com o objetivo de melhorar o desempenho dos animais, entre eles encontra-se a glutamina (Bartell & Batal, 2007), uma vez que fornece energia para células de rápida divisão (Wu et al., 1995) como os enterócitos, células constitutivas do trato gastrointestinal dos animais. Em condições de estresse, a glutamina que é um aminoácido não essencial, se torna um aminoácido condicionalmente essencial, visto que há redução em níveis plasmáticos deste aminoácido (Santos et al., 2007). Estudos recentes sugerem que a glutamina aumenta a expressão molecular de proteínas do choque térmico, (HSP's) responsáveis pela integridade celular (Sanders & Kon, 1991). O efeito da glutamina no aumento da expressão das HSP's ocorre de maneira dose-dependente, pois maiores concentrações de glutamina são necessárias de acordo com a intensidade do estresse fato que está provavelmente relacionado com a necessidade da célula de aumentar sua proteção e, conseqüentemente, sobreviver em condições de estresse (Singleton & Wischmeyer, 2007).

O presente trabalho foi realizado para avaliar os efeitos de níveis de glutamina na ração no desempenho e carcaça de frangos de corte submetidos à ambiente de termoneutralidade no período de 21 a 42 dias de idade.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Bioclimatologia Animal do Departamento de Zootecnia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG.

Neste experimento foram utilizados 168 frangos de corte machos sexados, da linhagem Cobb[®], vacinados contra as doenças de Marek e Bouda aviária no período de 21 aos 42 dias de idade. As aves foram mantidas em câmaras climáticas com temperatura constante (22°C) e umidade relativa entre 60 e 70%.

As aves foram criadas em galpão convencional até os 21 dias, sendo manejadas conforme o manual de criação da linhagem (Cobb, 2008). Neste período de (1 a 21 dias de idade) as aves receberam ração com 3.100 kcal/kg de energia metabolizável (EM), formulada para satisfazer suas exigências nutricionais, conforme preconizado por Rostagno et al. (2005).

Ao completarem 21 dias de idade, as aves, com peso inicial de $900,0 \pm 4,71$ g, foram transferidas para as câmaras climáticas, quando teve início o período experimental.

As aves foram alojadas em baterias de gaiolas metálicas (0,85 x 0,85 m) providas de comedouro e bebedouro tipo calha e distribuídas em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (ração basal e três níveis de glutamina), sete repetições e seis aves por unidade experimental. A unidade experimental foi representada pela gaiola.

As condições ambientais no interior das salas, temperatura e umidade relativa do ar, foram monitoradas e registradas diariamente, duas vezes ao dia (07h00 e 18h00), por meio de termômetros (bulbo seco, bulbo úmido e de globo negro) mantidos no centro das salas. Posteriormente, estes dados foram convertidos no Índice de Temperatura de Globo e Umidade (ITGU), conforme proposto por Buffington et al. (1981), para a caracterização do ambiente.

O programa de luz adotado durante o período experimental foi o contínuo (24 horas de luz artificial), utilizando lâmpadas fluorescentes.

Os tratamentos (Tabela 1) consistiram de: uma ração basal, com 3.000 kcal/kg de EM formulada para atender as exigências das aves na categoria estudada, segundo Rostagno et al. (2005); e de três rações com níveis de 0,50; 1,00 e 1,50% de

Tabela 1 – Composições centesimal e calculada das rações experimentais

Ingredientes (%)	Níveis de glutamina (%)			
	Basal	0,50	1,00	1,50
Milho	58,682	58,682	58,682	58,682
Farelo de soja	32,155	32,155	32,155	32,155
Óleo vegetal	3,565	3,565	3,565	3,565
Fosfato bicálcico	1,655	1,655	1,655	1,655
Calcário	0,844	0,844	0,844	0,844
Sal comum	0,471	0,471	0,471	0,471
Mistura vitamínica ¹	0,200	0,200	0,200	0,200
Mistura mineral ²	0,200	0,200	0,200	0,200
Anticoccidiano ³	0,050	0,050	0,050	0,050
BHT ⁴	0,010	0,010	0,010	0,010
Cloreto de colina ⁵	0,125	0,125	0,125	0,125
Avilamicina ⁶	0,010	0,010	0,010	0,010
DL-metionina (99%)	0,227	0,227	0,227	0,227
L-lisina HCL (78%)	0,168	0,168	0,168	0,168
L- treonina (98,5%)	0,038	0,038	0,038	0,038
Amido	1,600	1,100	0,600	0,100
L-Glutamina	0,000	0,500	1,000	1,500
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição calculada				
Proteína bruta (%)	19,743	20,343	20,943	20,643
Energia metab. (kcal/kg)	3,100	3,100	3,100	3,100
Lisina digestível (%)	1,073	1,073	1,073	1,073
Met + cis digestíveis (%)	0,773	0,773	0,773	0,773
Treonina digestível (%)	0,698	0,698	0,698	0,698
Triptofano digestível (%)	0,215	0,215	0,215	0,215
Valina digestível (%)	0,826	0,826	0,826	0,826
Isoleucina digestível (%)	0,770	0,770	0,770	0,770
Arginina digestível (%)	1,241	1,241	1,241	1,241
Leucina digestível (%)	1,605	1,605	1,605	1,605
Fenil.+tir.digestíveis (%)	1,521	1,521	1,521	1,521
Glicina + serina total (%)	1,782	1,782	1,782	1,782
Sódio (%)	0,205	0,205	0,205	0,205
Cálcio (%)	0,824	0,824	0,824	0,824
Fósforo Disponível (%)	0,411	0,411	0,411	0,411

¹Conteúdo/kg: vit. A - 20.000.000 UI, vit. D3 -5.000.000.000 UI, vit. E - 40.500 UI, vit. B1 – 3.000 mg, vit. B2 - 12,0 g - vit. B6 – 5000 mg - vit. B12 – 28.000 mcg - biotina 60 mg - niacina 87 g - ácido pantotênico - 29 g, vit. K3 – 4.600 mg, ácido fólico – 1.600 mg - 10 g, selênio - 250 mg, antioxidante BHT – 5.000 mg e veículo q.s.p. - 1.000 g.

²Conteúdo/kg: manganês, 156 g; ferro, 96 g; zinco, 110 g; cobre, 20 g; cobalto, 2 g; iodo, 1400 mg; e veículo q.s.p. 1.000 g.

³Salinomicina sódica – 60 ppm.

⁴Hidroxi-butil-tolueno.

⁵Cl-colina – 43,5 mg de colina.

⁶Avilamicina 10%.

glutamina. Os níveis de glutamina da rações foram obtidos a partir da inclusão da L-glutmanina na ração em substituição ao amido.

Durante o período experimental, o fornecimento das rações experimentais e de água às aves foi à vontade, sendo a água trocada três vezes ao dia.

As aves e as rações fornecidas foram pesadas no início e no final do período experimental e as sobras de ração no final do período, para avaliação do desempenho (consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar).

O consumo de ração das aves no período de 21 aos 42 dias de idade foi calculado por diferença entre a quantidade de ração fornecida, os desperdícios e as sobras das rações experimentais. O ganho de peso, das aves foi determinado pela diferença entre o peso das aves no início e no final do período avaliado. A partir dos dados de consumos de ração e de ganhos de peso, foram calculadas as conversões alimentares dos animais, em cada tratamento.

Ao completarem 42 dias de idade, os frangos foram pesados e duas aves de cada unidade experimental, com pesos mais próximos da média da gaiola (10% acima ou abaixo da média), foram submetidas a jejum alimentar de 12 horas. Após esse período, essas aves foram insensibilizadas por atordoamento elétrico e posteriormente abatidas por sangria mediante corte da artéria jugular. Depois de sangradas, depenadas e evisceradas, as carcaças foram pesadas para avaliação do rendimento de cortes nobres (peito, coxa e sobrecoxa).

Foi considerado o peso vivo após o jejum para a determinação do rendimento de carcaça. Para determinar os rendimentos de cortes nobres, foi considerado o peso da carcaça. E dentro de cada tratamento, outras três aves, com pesos subsequentes mais próximos da média do respectivo tratamento ($\pm 10\%$), foram abatidas para determinação da expressão de mRNA para a proteína do choque térmico de 70 kD (HSP70), no músculo *Pectoralis major*. As aves foram insensibilizadas, sangradas e tiveram a pele da região peitoral retirada. Imediatamente após esse processo, com o uso de um bisturi foi coletado uma amostra de aproximadamente 2,0 cm de comprimento, 0,5 cm de largura e 0,5 cm de profundidade, do músculo *Pectoralis major* direito, na região central da peça muscular. Imediatamente após a coleta, as amostras foram identificadas e imersas em RNA holder (BioAgency) para conservar a integridade do mRNA, sendo armazenadas em freezer, a -20°C , até o momento da extração. O mRNA total de cada amostra foi extraído utilizando-se o kit *RNeasy Mini Kit* (Qiagen) seguindo-se as recomendações do fabricante. Determinou-se a

concentração do mRNA total utilizando o espectrofotômetro Nano Vue Plus (GE Healthcare). A integridade do RNA foi avaliada utilizando gel de agarose a 1% e visualizado por meio da luz ultra-violeta. O cDNA foi sintetizado utilizando o kit SuperScript™ III First-Strand Synthesis Super Mix (Invitrogen). Foram adicionados 6 microlitros do mRNA total, 1 µL de oligo (dT) (50 µM oligo(dT)₂₀) e 1µL de *annealing buffer*. A mistura foi incubada por 5 minutos a 65°C e em seguida, colocada no gelo por 1 minuto. Subsequentemente, foram adicionados 10 µL de 2x First-Strand Reaction Mix solution e 2 µL da enzima SuperScript III reverse transcriptase. As amostras foram estocadas a -20°C até a análise.

As sequências dos genes foram obtidas no website www.ncbi.nlm.nih.gov. Os primers foram desenhados de acordo com as sequências contidas em GeneBank, usando o website www.idtdna.com.

As sequências de nucleótideos dos primers estão resumidos na Tabela 2.

Foram testados dois controles endógenos, os genes β-actina e GAPDH. Foi utilizado o gene da β-actina como controle endógeno porque houve menor variação em relação ao GAPDH, quando utilizado o programa GeNorm.(Vandesompele et al., 2002).

Todos os ensaios foram realizados em um volume final de 25 µL e em duplicata. Foi utilizado para a PCR em tempo real, o composto fluorescente. SYBR® Green PCR Master Mix (Qiagen).

As condições de amplificação para todos os sistemas foram: 95°C durante 2 minutos, 40 ciclos de desnaturação a 95°C durante 15 segundos, e de extensão e anelamento a 60°C durante 60 segundos. As eficiências de amplificação representaram cerca de 100% em cada ciclo, e a expressão relativa foi calculada utilizando uma equação para corrigir diferenças de eficiência, como descrito por Pfaffl et al, 2001. Foram utilizadas as seguintes concentrações: para ambos os genes, β-actina e HSP70, foram utilizados uma concentração de 400 nM e de 50 nM de cDNA. A amplificação de genes-alvo foi realizada em poços diferentes e em duplicatas.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três amostras por tratamento. Inicialmente, os dados em tempo real de PCR foram analisados utilizando o modelo linear misto, descrito abaixo.

$$y_{ijk} = GP_{ik} + D_{ijk} + e_{ijk}$$

Tabela 2 - Sequencia dos primers HSP70, β -actina e GAPDH

Genes	Sequencia 5'→ 3'
HSP70 (NM_001006685)	FP: CGTGACAATGCTGGCAATAAGCGA RP: TCAATCTCAATGCTGGCTTGCGTG
β -actina (NM_205518)	FP: AGACATCAGGGTGTGATGGTTGGT RP: TCCCAGTTGGTGACAATACCGTGT
GAPDH (NM_204305)	FP: CCCAGCAACATCAAATGGGCAGAT RP: TGATAACACGCTTAGCACCACCCT

Onde: y_{ijk} quantifica o nível de expressão do gene i no animal j no tratamento k ; GP_{ik} é o efeito do gene i no tratamento k ; D_{ijk} é o efeito específico da amostra aleatória (comum a ambos os genes), $D_{ijk} \sim N(0, \sigma^2_D)$; e e_{ijk} é o erro aleatório, $e_{ijk} \sim N(0, \sigma^2_e)$.

As variáveis avaliadas foram o consumo de ração, o ganho de peso, conversão alimentar, peso absoluto e rendimento da carcaça e de cortes nobres (peito, coxa e sobrecoxa) e a expressão do mRNA da proteína HSP70.

As análises estatísticas das variáveis de desempenho e carcaça foram realizadas pelo programa computacional SAEG (Sistema para Análises Estatísticas), desenvolvido na Universidade Federal de Viçosa – UFV (2003), por meio de modelos de regressão, utilizando o nível de significância de 10%, em ambos os experimentos.

Os procedimentos estatísticos para a análise da expressão do mRNA da proteína HSP70 foram realizados utilizando SAS 9.0 para Windows (*Statistical Analysis System* Institute, Inc., Carry, NC, EUA). A rotina %QPCR_MIXED foi desenvolvida no SAS para analisar dados de PCR em tempo real. O PROC MIXED (Steibel et al, 2009) foi utilizado e para cada gene alvo, a comparação dos valores de expressão a partir do tratamento controle foi realizada por CONTRASTES no PROC GLM utilizando teste t de Student.

Independente do efeito da interação entre o ambiente térmico e o nível de glutamina, ser ou não significativa, optou-se pelo desdobramento dos dados.

Resultados e Discussão

Os valores de temperatura do ar de $23,2 \pm 1,77^{\circ}\text{C}$, temperatura de globo negro de $24,3 \pm 2,37^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 5,8\%$ resultaram em um ITGU calculado de $72 \pm 2,75$, durante o período experimental. Considerando que no manual de criação da linhagem Cobb (2008) é preconizado que a temperatura do ar de 22 a 25°C e a umidade relativa de 60 a 75% caracterizam ambiente de termoneutralidade para frangos de corte dos 22 aos 42 dias de idade, pode-se inferir que as aves, deste estudo, foram mantidas em condições de ambiente ótimo de criação.

Os dados de desempenho das aves submetidas aos diferentes níveis de glutamina na ração encontram-se na Tabela 3.

Os níveis de glutamina na ração não influenciaram ($P>0,05$) o consumo de ração (CR) dos frangos. Resultados semelhantes foram observados por Maiorka (2000), Sakomoto et al. (2006), Soltan (2009) e Nascimento (2010) que não verificaram variação significativa na inclusão de glutamina na ração em relação a ingestão de alimentos das aves.

Com os dados de CR obtidos neste estudo ficou evidenciado que as aves em condições de termoneutralidade são capazes de metabolizar altos níveis de glutamina (1,50%) na ração sem influência negativa no CR, o que não confirma o relato de Soltan (2009) que níveis de 1,50% e 2,0% de glutamina resultam em redução do consumo de alimentos dos frangos.

O ganho de peso (GP) não variou ($P>0,05$) com o aumento dos níveis de glutamina na ração. Em conformidade com esse resultado Sakomoto et al. (2006) e Nascimento (2010), também não encontraram efeito positivo da suplementação de glutamina na ração na taxa de crescimento na fase de terminação. Por outro lado, Soltan (2009), Bartell e Batal (2007), Fasina et al. (2010), Yi et al. (2005) verificaram que a inclusão de glutamina na ração aumentou o ganho de peso de aves mantidas na termoneutralidade.

Considerando os relatos de Soltan (2009) e de Sakomoto et al. (2006), que a glutamina influencia positivamente a resposta imune das aves tornando-as mais resistentes à infecção, pode-se deduzir que a inconsistência dos resultados entre os trabalhos estaria relacionada, em parte, à possível diferença no nível imunológico das aves.

Tabela 3 - Desempenho de frangos de corte recebendo rações com níveis diferentes de glutamina, mantidos em ambiente termoneutro dos 21 aos 42 dias de idade

Variável	Nível de glutamina (%) ¹				P	CV (%)
	0,00	0,50	1,00	1,50		
Consumo de ração (g)	3211	3141	3208	3138	0,05	2,38
Ganho de peso (g)	1959	1908	1949	1918	0,05	2,31
Conversão alimentar (g/g)	1,63	1,64	1,64	1,63	0,05	1,51

¹ Efeito não significativo.

Avaliando a suplementação de glutamina em rações para frangos de corte em diferentes níveis de desafio imunológico Fasina et al. (2010), verificaram efeito positivo da glutamina sobre o ganho de peso das aves somente no estudo em que se empregou maior nível de desafio.

Não se observou efeito ($P>0,05$) dos níveis de glutamina na conversão alimentar (CA) das aves. Estes dados estão consistentes com os encontrados por Bartell e Batal (2007) e por Soltan (2009) que ao suplementar glutamina na ração dos frangos de corte não obtiveram efeito significativo do aminoácido na eficiência de ganho. No entanto, estudos conduzidos por (Yi et al., 2001a), revelaram melhora significativa na eficiência alimentar de frangos de corte quando alimentados com uma dieta suplementada com 1,0% de glutamina.

O fato da suplementação da glutamina neste estudo não ter influenciado significativamente a CA das aves, revelou que em boas condições ambientais como a adequada temperatura e provavelmente o baixo nível de desafio do sistema imune em razão da higienização prévia das instalações e a inclusão de promotor de crescimento nas rações experimentais, utilizados neste estudo, tornou-se dispensável a suplementação de glutamina para as aves expressarem a sua máxima eficiência de crescimento. De forma coerente com esta proposição Dai et al. (2011) demonstraram que quando submetidos ao desafio por alta temperatura, os frangos de corte aumentam a demanda de glutamina para alcançar sua máxima eficiência enquanto Newsholme et al. (2001) relata que a glutamina é um aminoácido essencial durante condições inflamatórias, tais como infecção e injúrias.

Os dados de carcaça e rendimento dos cortes das aves, submetidas aos diferentes níveis de glutamina na ração, encontram-se na Tabela 4.

Com relação aos dados de carcaça não se verificou efeito ($P>0,05$) dos níveis de glutamina nos pesos absolutos e nos rendimentos de carcaça, de peito, de coxa

Tabela 4 - Peso absoluto e rendimento de carcaça e de cortes nobres das aves recebendo rações com níveis diferentes de glutamina, mantidas em ambiente termoneutro aos 42 dias de idade

Variáveis	Níveis de Glutamina (%) ¹				P	CV (%)
	0,00	0,50	1,00	1,50		
Peso Absoluto (g)						
Carcaça	2282	2203	2227	2158	0,05	3,30
Peito	799	796	794	768	0,05	4,70
Coxa	276	260	263	259	0,05	5,98
Sobrecoxa	321	321	327	309	0,05	5,09
Rendimento (%)						
Carcaça	83,13	82,47	82,35	82,40	0,05	0,82
Peito	34,77	35,89	35,63	35,62	0,05	3,42
Coxa	12,07	11,80	11,82	12,00	0,05	4,31
Sobrecoxa	14,13	14,53	14,67	14,41	0,05	3,91

¹Efeito não significativo

e de sobrecoxa das aves. Estes resultados corroboram com os obtidos por Sakomoto (2009) que também não verificaram variação significativa no rendimento de carcaça e de cortes nobres em razão do aumento do nível de glutamina na ração. Da mesma forma, Zavarize et al. (2011) não constataram influência da suplementação de glutamina na ração no rendimento de carcaça e cortes nobres de frangos de corte.

Os dados obtidos para as variáveis de carcaça estão coerentes com os de desempenho, uma vez que o fato do ganho de peso e a conversão alimentar das aves não ter variado entre os tratamentos justifica os resultados de carcaça obtidos.

Os dados de expressão do mRNA da proteína HSP70 no músculo *Pectoralis major* das aves submetidas aos diferentes níveis de glutamina na ração encontram-se na Figura 1.

Ao analisar a expressão do mRNA da proteína HSP7 no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte dos 21 aos 42 dias, observou uma melhora não significativa na expressão do transcrito nos níveis de 1,00 e 1,50% de glutamina.

O fato de a temperatura ambiente ter sido mantida dentro da faixa de termoneutralidade das aves, pode ser um dos principais fatores que justifica a falta de resposta significativa da expressão do mRNA da proteína HSP70 a suplementação de glutamina na ração neste estudo. Segundo Dai et al. (2009), a glutamina é um aminoácido condicionalmente essencial e pode aumentar a expressão in vivo da HSP70 induzida pelo estresse e melhorar a sobrevivência das células quanto a uma variedade de estímulos estressantes. Confirmando relatos de Al-Alqil e Zulkifli

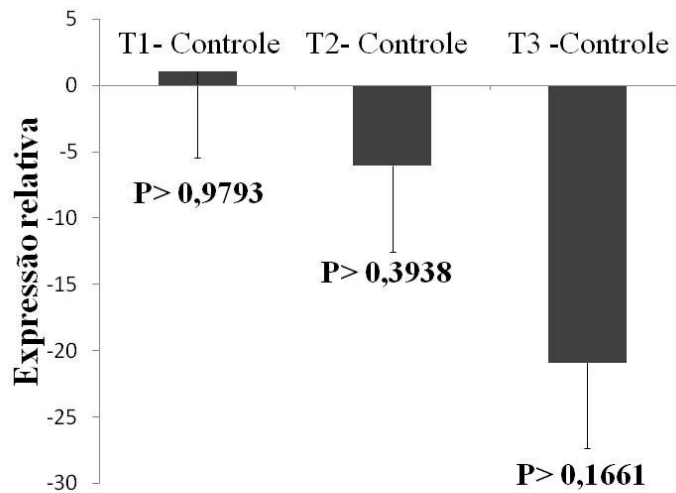


Figura 1 – Expressão relativa do mRNA da proteína do choque térmico (HSP70) no músculo *Pectoralis major* de frangos de corte mantidos em ambiente de termoneutralidade, aos 42 dias de idade.

(2009) que verificaram que frangos de corte produzidos em galpões convencionais abertos, os quais apresentam oscilações de temperatura, desenvolvem maior expressão da HSP70, suportando o estresse térmico por calor durante o transporte com melhor eficiência em comparação a frangos criados em aviário fechado com ambiente controlado.

Conclusão

Os níveis de glutamina na ração não influenciaram as variáveis de desempenho e características de carcaça de frangos de corte mantidos em ambiente de termoneutralidade dos 21 aos 42 dias de idade.

Literatura Citada

- BARTELL, S.M.; BATAL, A.B. The effect of supplemental glutamine on growth performance, development of the gastrointestinal tract, and humoral immune response of broilers. **Poultry Science**, v.86, p.1940–1947, 2007.
- BUFFINGTON, D.E.; COLAZZO-AROCHO, A.; CANTON, G.H. et al. Black globe-humidity index (BGHI) as comfort equation for dairy cows. **Transaction of the ASAE**, v.24, p.711-714, 1981.
- COBB-VANTRESS. **Manual de manejo de frangos de corte cobb**. Guapiaçu, SP: Cobb-Vantress Brasil, p.66p, 2008.
- CURTIS, S.E. **Environmental management in animal agriculture**. Ames, Iowa:Iowa State University Press, 1983.
- DAI, S.F.; WANG, L.K.; WEN, A.Y. et al. Dietary glutamine supplementation improves growth performance, meat quality and colour stability of broilers under heat stress. **British Poultry Science**, v.50, p.333-340, 2009.
- DAI, S.F.; GAO, F.; ZHANG W.H. et al. Effects of dietary glutamine and gamma-aminobutyric acid on performance, carcass Characteristics and serum parameters in broilers under circular heat stress. **Animal Feed Science and Technology**, v.168, p.51-60, 2011.
- FASINA, Y.O.; BOWERS, J.B.; HESS, J.B. et al. Effect of dietary glutamine supplementation on Salmonella colonization in the ceca of young broiler chicks. **Poultry Science**, v.89, p.1042–1048, 2010.
- LAGANÁ, C.; RIBEIRO, A.M.L.; KESSLER, A.M.; SOUZA, E.N. Influência do nível nutricional da dieta no rendimento de órgãos e gordura abdominal em frangos estressados por calor. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.6, p.59-66, 2005.
- LANA, G.R.Q.; ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T. et al. Efeito da temperatura ambiente e da restrição alimentar sobre o desempenho e a composição de carcaça de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, p.1117-1123, 2000.
- MAIORKA, A.; SILVA, A.V.F.; SANTIN, E. et al. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52(5), p.487-490, 2000.
- NASCIMENTO, G.M. **Suplementação da L-Glutamina em ração sem agente anticoccidiano para frangos: Desempenho e desenvolvimento da mucosa intestinal**. Goiás: Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, 2010. 52p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, 2010.
- NEWSHOLME, P. Why is L-Glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? **Journal Nutrition**, v.131, p.2515S-2522S, 2001.
- PFAFFL, M.W. A new mathematical model for relative quantification in real time RT-PCR. **Nucleic Acids Research**, v.29(9), p.45, 2001.

- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2 ed. Viçosa, MG: UFV, Departamento de Zootecnia, 186p. 2005.
- SAKAMOTO, M.I.; MURAKAMI, A.E.; SILVEIRA, T.G.V. et al. Influence of glutamine and vitamin E on the performance and the immune response of broiler chickens. **Brazilian Journal Poultry Science**, v.8, p.243-249, 2006.
- SAKAMOTO, M.I. **Desempenho, desenvolvimento e atividade enzimática da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com glutamina e nucleotídeos**. São Paulo: Faculdade de Zootecnia e Engenharia de alimentos da Universidade de São Paulo, 2009. 117p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade de São Paulo, 2009.
- SANDERS, M.M.; KON, C. Glutamine is a powerfull effector of heat shock protein expression in drosophila Kc cells. **Journal of Cellular Physiology**, v.146, p.180-190, 1991.
- SANTOS, R.V.T.; CAPERUTO, E.C.; COSTA ROSA, L.F.B.P. Effects of acute exhaustive physical exercise upon glutamine metabolism of lymphocytes from trained rats. **Life Science**, v.80, p.573-8, 2007.
- SINGLETON, K.D.; WISCHMEYER, P.E. Glutamine protection against sepsis and lung injury is dependent on heat shock protein 70 expression. **American journal Physiology**, v.292, p.1839-45, 2007.
- SOLTAN, M.A. Influence of dietary glutamine supplementation on growth performance, small intestinal morphology, immune response and some blood parameters of broiler chickens. Int. **Journal Poultry Science**, v.8, p.60–68, 2009.
- STEIBEL, J.P.; POLETO, R.; COUSSENS, P.M. et al. A powerful and flexible linear mixed model framework for the analysis of relative quantification RT-PCR data. **Genomics**, v.94, p.146–152, 2009.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG – Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.1. Viçosa, MG, 2003. (Apostila).
- VANDESOMPELE, J.; DE PRETER, K.; PATTYN, F. et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. **Genome Biology**, v.3, RESEARCH0034, 2002.
- WU, G.; FLYNN, N.E.; YAN, W. et al. Glutamine metabolism in chick enterocytes: absence of pyrroline-5- synthase and citrulline synthesis. **Biochemical Journal**, v.306, p.717–721, 1995.
- YI, G. F.; ALLEE, G. L.; FRANK, J. W. et al. Impact of glutamine, menhaden fish meal, and spray-dried plasma on the growth and intestinal morphology of broilers. **Poultry Science**, v.80 (Suppl. 1), p.201. (Abstr.), 2001.
- YI, G.F.; ALLEE, G.L.; KNIGHT, C.D.; DIBNER, J.J. Impact of glutamine and oasis hatching supplement on growth performance, small intestinal morphology and immune response of broiler vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. **Poultry Science**, v.84, p.283–293, 2005.
- ZAVARIZE, K.C.; SARTORI, J.R.; PELÍCIA, V.C. et al. Glutamina e nucleotídeos na dieta de frangos de corte criados no sistema alternativo. **Archivos de Zootecnia**, v.60, p.913-920, 2011.

ZULKIFLI, I.; AL-AQIL, A.; OMAR, A. R. et al. Crating and heat stress influence blood parameters and heat shock protein 70 expression in broiler chickens showing short or long tonic immobility reactions. **Poultry Science**, v.88, p.471-476, 2009.

CONCLUSÃO GERAL

O nível de 0,66% de glutamina na ração proporcionou melhor resultado de ganho de peso de frangos de corte, mantidos em ambiente de calor dos 21 aos 42 dias de idade.

Os níveis de glutamina na ração não influenciaram as variáveis de desempenho e características de carcaça de frangos de corte mantidos em ambiente de termoneutralidade dos 21 aos 42 dias de idade.