

MEDICINA VETERINÁRIA

AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE RELATIVA ENTRE BETAÍNA E METIONINA PARA FRANGOS DE CORTE

MANOEL GARCIA NETO

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" para o concurso de Livre Docência junto ao Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Odontologia – Campus de Araçatuba, disciplinas de Zootecnia I e II.

ARAÇATUBA - SP

- 2004 -



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

“CAMPUS” DE ARAÇATUBA - CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

DEPARTAMENTO DE APOIO, PRODUÇÃO E SAÚDE ANIMAL

AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE DE METIONIA E BETAÍNA PARA FRANGOS DE CORTE.

MANOEL GARCIA NETO

ARAÇATUBA - SP

- 2004 -

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca da FOA / UNESP

G216a Garcia Neto, Manoel
Avaliação da biodisponibilidade relativa entre betaína e metionina para frangos de corte / Manoel Garcia Neto. -- Araçatuba : [s.n.], 2004.
88 f. : il.

Tese (Livre-Docência) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Araçatuba, 2004.

1.Betaína. 2. Metionina. 3.Frangos de corte. 4.Nutrição animal. 5.Biodisponibilidade de nutrientes.

CDD 636.085

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: Manoel Garcia Neto

Título: AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE RELATIVA ENTRE
BETAÍNA E METIONINA PARA FRANGOS DE CORTE

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" para o concurso de Livre Docência junto ao Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Odontologia - Campus de Araçatuba, disciplinas de Zootecnia I e II.

Data: __ / __ / __

Prof. Dr. _____ Julgamento: _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Julgamento: _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Julgamento: _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Julgamento: _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Julgamento: _____
Instituição: _____ Assinatura: _____

Palavras Iniciais

“A luta contra o erro tipográfico tem algo de homérico. Durante a revisão os erros se escondem, fazem-se positivamente invisíveis. Mas assim que o texto sai, tornam-se visibilíssimos, verdadeiros Sacis a nos botar a língua em todas as páginas. Trata-se de um mistério que a ciência ainda não conseguiu decifrar...”

Monteiro Lobato

A G R A D E C I M E N T O S

A DEUS por renovar a cada manhã as suas misericórdias sobre minha vida.

A Synthia, minha querida esposa, que com muito carinho tem sempre abraçado os desafios de minha caminhada.

Ao meu filho, Victor Emmanuel, por sempre me receber sorrindo apesar de minhas ausências dedicadas à realização desta tese.

Aos amigos da FOA e do Curso de Medicina Veterinária, por sua amizade sincera.

Ao professor Dr. Otto Mack Junqueira, pelas palavras de encorajamento, desde o início de minha carreira.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, proc. 96/10061-0) e ao Poultry Science Department da University of Georgia – UGA, Athens, GA, USA, os quais deram todo o suporte necessário para a condução dos projetos de pesquisa e permitiu conviver com os membros do Poultry Science Department, em especial Dr. Gene M. Pesti e Dr. Remzi Bakalli I., o que foi uma excelente oportunidade de aprendizagem.

E para todos que, de uma forma ou outra, me auxiliaram e me deram forças para a realização deste trabalho e que não foram nominalmente aqui citados.

SUMÁRIO

	<i>Página</i>
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE ANEXOS	vii
RESUMO	viii
SUMMARY	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Betaína como um composto químico.....	3
2.2. Betaína: suas funções e interações.....	5
2.3. A importância do conteúdo de grupos metílicos na dieta.....	8
2.4. Betaína na nutrição animal e humana.....	10
2.5. Metionina.....	12
2.6. O papel da betaína na metilação da homocisteína.....	14
2.7. Colina.....	15
2.8. Betaína: uma ativa forma metilada da colina.....	16
2.9. Betaína: um protetor osmótico.....	18
2.10. Betaína na nutrição de aves.....	19
2.11. Coccidiose e nutrição de aves.....	21

3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1. Experimento I.....	31
4.2. Experimento II.....	38
4.3. Experimento III.....	44
4.4. Considerações Gerais.....	64
5. CONCLUSÕES.....	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
ANEXOS.....	80

LISTA DE TABELAS

	<i>Página</i>
1. Composição porcentual, calculada e por análise das dietas fornecidas às aves durante o período experimento.....	27
2. Tratamentos do experimento I, segundo a combinação de níveis de suplementação de metionina e betaína.....	28
3. Tratamentos do experimento II, segundo a combinação de níveis de suplementação de metionina e betaína.....	29
4. Tratamentos do experimento III, segundo a combinação de níveis de suplementação de metionina e betaína.....	30
5. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaína (Bet) em relação ao consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar e gordura abdominal, em fêmeas de frango de corte, aos 21 dias de idade..	36
6. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaína (Bet) em relação ao ganho de peso e ao consumo de ração em machos de frangos de corte, aos 21 dias de idade.....	42
7. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaína (Bet) em relação à conversão alimentar e à gordura abdominal em machos de frangos de corte, aos 21 dias de idade.....	43
8. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaína (Bet) em relação ao ganho de peso em machos de frangos de corte, aos 21 dias de idade.....	52
9. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaína (Bet) em relação ao consumo de ração em machos de frangos de corte, aos 21 dias de idade.....	53
10. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaína (Bet) em relação à conversão alimentar em machos de frangos de corte, aos 21 dias de idade.....	54
11. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaína (Bet) em relação à gordura abdominal em machos de frangos de corte, aos 21 dias de idade.....	55

LISTA DE FIGURAS

	<i>Página</i>
1. Fórmula estrutural da Betaína.....	4
2. Ganho de peso das aves em gramas, segundo à suplementação de metionina da ração, para cada nível de betaína	37
3. Gráfico de contornos para o ganho de peso (g) de frangos com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).....	56
4. Gráfico de contornos para o consumo de ração (g) de frangos com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).....	57
5. Gráfico de contornos para a conversão alimentar de frangos com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).....	58
6. Gráfico de contornos para gordura abdominal (%) de frangos com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).....	59
7. Superfície de resposta tridimensional para o ganho de peso (g) de frangos com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).....	60
8. Superfície de resposta tridimensional para o consumo de ração (g) de frangos com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).....	61
9. Superfície de resposta tridimensional para a conversão alimentar de frangos com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).....	62
10. Superfície de resposta tridimensional para a gordura abdominal (%) de frangos com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).....	63

LISTA DE ANEXOS

	<i>Página</i>
ANEXO A. Análise de superfície de resposta para o ganho de peso	81
ANEXO B. Análise de superfície de resposta para o consumo de ração	83
ANEXO C. Análise de superfície de resposta para a conversão alimentar....	85
ANEXO D. Análise de superfície de resposta para a gordura abdominal	87

RESUMO

Três experimentos foram conduzidos com linhagens comerciais de frangos de corte mantidos em baterias metálicas, para determinar a biodisponibilidade relativa de duas fontes de grupamentos metílicos (metionina e betaína). A dieta basal (controle) foi formulada com milho e farelo de soja, contendo 1.896, 1.969 e 2.010 mg/kg de colina nos experimentos I, II e III, respectivamente. Os níveis suplementados em betaína e metionina foram isomolares. O experimento I (fêmeas até 21 dias de idade) constou de seis níveis de metionina (0; 5,36; 10,72; 16,08; 21,45; 32,17 mMol/kg) e dois níveis de betaína (0 e 5,36 mMol/kg). No experimento II (machos até 21 dias de idade) a dieta controle foi suplementada com 0; 2,68; 5,36; 8,04; 10,72; 13,40 mMol/kg de metionina ou 0; 2,68; 5,36; 8,04; 10,72; 13,40 mMol/kg de betaína. Em relação ao experimento III (machos até 21 dias de idade) houve quatro níveis de metionina (0; 8,04; 10,72 e 13,40 mMol/kg) e três níveis de betaína (0; 6,7 e 13,4 mMol/kg). Para os experimentos I e III foram utilizados quatro repetições de oito aves para cada tratamento. O experimento II apresentou quatro repetições para cada tratamento e oito repetições para o grupo controle, apresentando também oito aves por parcela experimental. Foi constatado para os experimentos I, II e III que os valores de inclinação da curva para a betaína e metionina foram significativos para os parâmetros peso corporal e conversão alimentar. No experimento III somente o valor de inclinação para curva da metionina foi significativo, em relação ao consumo alimentar. Nem a metionina ou a betaína diminuíram a gordura abdominal em nenhum dos experimentos. Em média, os dados dos experimentos II e III indicaram que as biodisponibilidades relativas da betaína foram de 52% e 69% quando a variável resposta consideradas foram o ganho de peso e a conversão alimentar, respectivamente, tendo a metionina como fonte padrão.

SUMMARY

Three Experiments were conducted with commercial strain chickens maintained in battery brooders to determine the relative bioavailability of the two methyl sources (methionine and betaine). The basal diet was elaborated with corn and soybean meal contained 1,896; 1,969 and 2,010 mg/kg choline in Experiment I, II and III, respectively. The betaine and methionine supplements were isomolar. In Experiment I (female for 21 days) there were 6 levels of methionine (0; 5.36; 10.72; 16.08; 21.45; 32.17 mMol/kg) and two levels of betaine (0 and 5.36 mMol/kg). In Experiment II (male for 21 days) the control diets were supplemented with 0; 2.68; 5.36; 8.04; 10.72; 13.40 mMol/kg of methionine or 0; 2.68; 5.36; 8.04; 10.72; 13.40 mMol/kg of betaine. In Experiment III (male 21 days) there were 4 levels of methionine (0; 8.04; 10.72; 13.40 mMol/kg) and three levels of betaine (0; 6.7 and 13.4mMol/kg). There were four replicate pens with eight chicks per each treatment in Experiment I and III. There were four replicates per each treatment and eight replicates pens for the control group in Experiment II. In Experiment I, II and III, the slope values for betaine and methionine were significant on body weight gain and feed conversion. In the Experiment III, only for methionine, the slope values were significant on feed consumed. Neither methionine nor betaine decreased abdominal fat pad in anyone experiment. On average, the data of the Experiments II and III indicated that the relative bioavailabilities of the betaine were 52% and 69% when the response variables were body gain and feed conversion, respectively, in relation to the standard source of methionine.

1. INTRODUÇÃO

Os constantes programas de melhoramento genético aplicados nas atuais linhagens de frangos de corte, fazem com que essa categoria de aves exija maiores cuidados quanto ao equilíbrio da dieta, à qualidade de matéria-prima e aos aspectos físicos da ração.

Concomitantemente, os programas nutricionais buscam obter a melhor correlação entre os nutrientes, principalmente proteína e energia, visando não somente uma melhor rentabilidade da produção, mas também a obtenção de carcaças que atendam a um mercado cada vez mais exigente.

Em relação aos fatores de desempenho de uma criação, o futuro aponta para o "rendimento" como o principal fator a ser considerado em uma linhagem.

Em virtude da maior precocidade das aves, o balanceamento correto é de vital importância para um bom arraçoamento, resultando em uma preocupação quanto à adequada suplementação dos nutrientes na dieta, visto que as reservas corporais das aves são limitadas (Harms et al., 1971).

Como a ênfase da genética continuará sendo conduzida para o rendimento em carne comestível, e logicamente visando uma deposição reduzida de gordura abdominal, as dietas futuras serão bem mais eficientes (Campos, 1982, Waldroup, 1996).

Assim, o objetivo da produção é o de se obter "carne" e os efeitos dos níveis de nutrientes na dieta devem ser encarados sob essa perspectiva. Por outro lado, a gordura, principalmente abdominal, é um fator sempre desfavorável pois determina perdas quando é removida; e tem aparência

desagradável quando é mantida. Dessa forma, tanto por parte dos abatedouros e consumidores há preferência por carcaças magras.

A preocupação com a deposição de gordura abdominal é grande, e segundo Campos (1982), o problema não é puramente nutricional, ou seja, os níveis energéticos constituem os efeitos e não as causas. Ainda segundo o mesmo autor, seria possível dentro de um programa genético selecionar aves cujas linhas possuam menor capacidade de deposição de gordura abdominal, e, posteriormente procurar melhorar o peso e o rendimento da carcaça através de acasalamentos com outras linhagens mais pesadas, contornando dessa forma o problema da deposição de gordura abdominal.

A tendência do consumidor é tornar-se mais exigente, o qual irá procurar frangos processados em partes ou a carne já desossada. Este fato obriga a indústria avícola a direcionar seus interesses para um maior processamento de aves em partes e carnes sem ossos, particularmente do peito, graças ao seu maior valor comercial, além de contribuir com uma maior quantidade de carne da carcaça.

Motivados por tais considerações, procurou-se com esta pesquisa avaliar a biodisponibilidade relativa entre a betaína e a metionina e suas ações como fatores lipotrópicos que afetam a gordura da carcaça, visando a obtenção de um melhor rendimento para frangos de corte.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Betaína como um composto químico

O nome comum para a trimetil-glicina é betaína, mas também pode ser denominada de N-trimetil-glicina, glicina-betaína, glicocol-betaína, oxineurina e licina. Assim todas essas designações são para o composto carboximetil-trimetil-amônio, descoberto por Schielbler em 1869 no suco de beterraba (*Beta vulgaris*). A fórmula química desse composto quaternário de amônia é $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$ e seu peso molecular é 117,15. É altamente solúvel em água, ligeiramente solúvel em metanol e etanol e praticamente insolúvel em solventes orgânicos (Budavari, 1996).

Outra característica da betaína é que ela representa de 0,1 - 1,1% do nitrogênio total do pasto verde, da alfafa verde e de algumas variedades de milho e outros cereais. A betaína e outros produtos amônios quaternários são considerados como representantes do produto final do metabolismo do nitrogênio das plantas (Budavari, 1996).

Konosu & Hayashi (1975) verificaram que altos níveis de betaína são encontrados em muitos produtos marinhos (invertebrados e algas). No plasma humano a concentração de betaína varia de 20 a 70 $\mu\text{mol/L}$; e mesmo em sérias desordens metabólicas esses níveis são bem controlados (Lever et al., 1994).

Wilcken et al. (1983) relataram que a betaína é geralmente conhecida como um produto não tóxico, sendo usada em tratamentos da hiperhomocisteinemia congênita.

Yancey et al. (1982) identificaram que a betaína, quimicamente, algumas vezes refere-se a um composto amônio quaternário, sendo caracterizado como uma metilamina. Assim a única propriedade fisiológica da betaína é devido à sua estrutura bipolar com grupos metílicos quimicamente reativos, ligados ao átomo de nitrogênio da molécula de glicina, cuja fórmula estrutural é apresentada na figura 1.

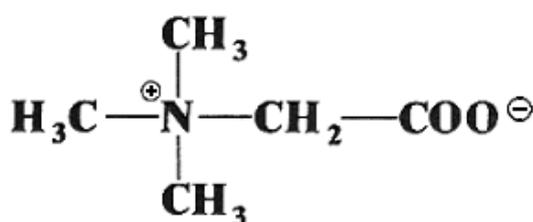


Figura 1. Fórmula estrutural da betaína.

O grupo metil (CH₃) não pode ser sintetizado pelos animais, incluindo humanos, assim esse deve ser suprido por fontes exógenas (usualmente a dieta) para uma fisiologia funcional (Kidd et al., 1997). Os grupos metílicos são necessários em muitas reações metabólicas que transferem grupos CH₃ para o DNA, RNA, proteína, carnitina, creatina, lipídios e muitos outros importantes produtos metilados contidos nos constituintes corporais (Smolim & Benevenga, 1989; Frontiera et al, 1994).

Pesquisas sobre o metabolismo do grupo metil e sua regulação têm avaliado o relacionamento entre doadores de metil e a nutrição, e suas relações com doenças. Sabe-se que a deficiência de grupos metílicos no metabolismo de animais pode levar à não metilação de DNA e

concomitantemente a ativação da oncogênese, dando condições para um aumento na taxa de câncer de fígado (Newberne, 1993).

2.2. Betaína: suas funções e interações

Nos animais a única fonte endógena conhecida de betaína é a partir da oxidação da colina em mitocôndrias do fígado e dos rins (Davies et al., 1992).

A betaína pode também ser designada como um aminoácido (derivativo) metilado não tóxico, apresentando dupla função: protetor osmótico e doador de grupos metílicos em vertebrados (Kidd et al., 1997; Kettunen et al., 2001a). Kidd et al. (1997) constataram também que ela apresenta um papel de osmoproteção intestinal. Trabalhando na mesma linha de pesquisa Mongin (1976) constatou que o epitélio intestinal das aves apresenta um fluido luminal hiperosmótico durante o processo de digestão, e posteriormente Ferket, (1995); Augustine et al., (1997); Allen et al., (1998); Waldenstedd et al., (1999); Kettunen et al., (2001b) anunciaram que as dietas suplementadas com betaína têm sido benéficas, quanto ao ganho de peso, quando o intestino está comprometido, principalmente por aliviar o prejuízo causado por coccidioses.

O grupo metil das três principais fontes da dieta (metionina, colina e betaína) nos processos metabólico não é igualmente disponibilizado nas reações de metilação. Assim, a maior parte da metionina da dieta é necessária para a síntese de proteína (Smolin & Benevega, 1989); a colina é

predominantemente usada nas membranas das células (Davies et al., 1992; Rompala & King, 1995; Stryer, 1995).

A absorção da betaína, metionina e colina são mediadas por um carreador, com ou sem transporte ativo (Lerner et al., 1975; Saitoh et al., 1992; Rompala & King, 1995; Thwaites et al., 1995; Macnz & Engele-Schaan, 1996). Desses três compostos, somente a betaína pode atuar diretamente como um doador de grupo metil.

Outros doadores, como a colina e a metionina, necessitam passar por transformações para serem utilizados pelos animais; a colina deve ser convertida em betaína na mitocôndria e a metionina precisa ser ativada através da síntese de S-adenosil-metionina (Finkelstein, 1990).

O S-adenosil-metionina (SAM), sintetizado a partir da metionina e ATP, é o principal doador de grupos metílicos no tecido de vertebrados (Kidd et al, 1997; Bailey & Gregory, 1999ab). Quando SAM doa um grupo metil, esse transforma-se em S-adenosil-homocisteína, sendo então transformado em homocisteína. A homocisteína pode então ser reciclada novamente em metionina, através de uma reação de transmetilação, na qual a betaína doa um grupo metil, passando a dimetil-glicina (Finkelstein & Martin, 1984; Kidd et al., 1997). Essa reação é catalisada pela betaína-homocisteína-metil-transferase (BHMT). A BHMT é encontrada nas aves somente no fígado (Emmert et al., 1996), mas em mamíferos pode ser encontrada também nos rins (Finkelstein & Martin, 1984).

Portanto, poupar metionina do ciclo da transmetilação é muito importante, principalmente quando as necessidades fisiológicas da

metionina excedem sua disponibilidade na dieta (Krebs et al., 1976; Davies et al., 1992). Além do mais, a homocisteína em altas concentrações é tóxica; por conseguinte elevados níveis no sangue de homocisteína têm sido correlacionados a ocorrências de muitas doenças em humanos (Finkelstein, 2000). Hafez et al.(1978) constataram que o excesso de homocisteína compromete o ganho de peso em frangos de corte.

A suplementação em betaína pode auxiliar no controle da depressão do crescimento causada por excessivos níveis de homocisteína em frangos (Hafez et al., 1978), e promover um decréscimo significativo de 30% da homocisteína no plasma de frangos de corte (Kettunen et al., 2001c). De acordo com Baker & Czarnecki (1985) dietas suplementadas com betaína, mas não com colina, mostraram ser eficientes na remetilação da homocisteína para metionina em frangos de corte alimentados com dietas deficientes em metionina.

A betaína é encontrada em cereais como o trigo e a cevada (aproximadamente 3.960 e 700 ppm, respectivamente), entretanto o milho (maior componente das rações de frango de corte) apresenta menos que 125 ppm (Chendrimada et al. 2002), e o farelo de soja 213 ppm (Siljanden-Rasi et al., 2003). Normalmente a suplementação em betaína é feita diretamente na ração, mas também pode ser dada via água, especialmente quando usada para aliviar diarréias (Ferket, 1995).

2.3. A importância do conteúdo de grupos metílicos na dieta

Como um doador de metil na dieta animal, a suplementação de betaína é o caminho mais eficiente para suprir grupos metílicos e diminuir as necessidades de colina e metionina (Virtanen & Rosi, 1995).

O aumento na concentração de vários compostos doadores de metil pode também afetar a proporção de homocisteína, que é reciclada. Na presença de adequados doadores de metil, o requisito de metionina na dieta pode ser satisfeito pela homocisteína no homem (Landgren et al., 1995).

Alguns estudos têm investigando a importância relativa de folatos vs betaína na dependência da metilação. Várias evidências têm sugerido que a metilação dependente de folato é mais significativa para a manutenção da metionina do tecido. Em assim sendo, essas enzimas dependentes de folato estão presentes em todos os tecidos, enquanto as enzimas dependentes de betaína estão presentes somente no fígado e nos rins (Davies et al., 1992; Emmert et al., 1996).

A Betaína-homocisteína-metil-transferase é essencial para o catabolismo da colina, tanto quanto é significativa para a regulação do metabolismo da metionina. A atividade dessa enzima é dependente do conteúdo de metionina da dieta e aumenta com a sua ingestão (Wolff et al., 1998).

O nível de betaína-homocisteína-metiltransferase aumenta quando a dieta é suplementada com betaína e colina (Stamler & Slivka, 1996). Assim sendo, a remetilação mantém o metabolismo apropriado do balanço entre metionina, homocisteína e cisteína.

Wolff et al. (1998) concluíram que o ácido fólico, a betaína, o zinco e a vitamina B12, têm potencial para afetar a metilação, e muitas combinações desses suplementos poderiam ser contribuintes para “metilação da dieta”.

A vitamina B12 é requerida pela metionina-sintetase, assim a suplementação em folato deveria ser acompanhada por um adequado nível de metil-cobalamina, se o objetivo é melhorar a reação de metilação do DNA (Wolff et al, 1998).

Chadwick et al. (2000) identificaram uma segunda enzima-betaína (betaína-homocisteína-metiltransferase-2), mais abundante no fígado de adultos e nos rins, mas também presente, em baixos níveis, em outros tecidos: cérebro, coração e músculos esqueléticos. Ambas betaínas-homocisteínas-metiltransferases são enzimas zinco-dependentes. Assim, dietas designadas para aprimorar a metilação requererem suplementação de zinco (Wolff et al., 1998).

2.4. Betaína na nutrição animal e humana

A betaína também tem sido designada como uma semivitamina essencial na dieta de algumas espécies, como: peixes, aves e coelhos, sob certas condições (Combs, 1992).

A betaína ao ser utilizada como um doador de grupos metílicos, poderá parcialmente substituir a metionina nas dietas de aves e suínos (Virtanen & Rumsey, 1996). Recentes trabalhos também sugerem que a betaína tem um papel na economia energética, por reduzir o requisito de

manutenção para suínos (Schrama & Gerrits, 2000). Além disso, a betaína tem otimizado o desempenho e a gordura da carcaça, mas os resultados dos estudos são variados e mostram que há dependência da idade e do sexo do animal, do nível de alimentação e da composição da dieta (Sakomura et al., 1992; Ludke et al. 1994; Garcia-Neto et al., 2000).

A colina pode também ser usada como um doador de metil na alimentação animal. Para aves, o grupo metil fica disponível depois da sua conversão em betaína no fígado. Contudo, dietas suplementadas com betaína foram duas vezes mais eficientes do que as suplementadas com colina, na base equimolar, por aumentar os níveis de betaína do fígado em frangos de corte (Saarinen et al., 2001).

Tanto a betaína como a colina, o ácido fólico, a vitamina B12 e a adenosil-metionina são compostos que funcionam como doadores de metil (Barak & Tuma, 1983; Selhub, 1999). Eles carregam e doam moléculas de metil para facilitar diversos processos químicos. A doação de grupos metílicos pela betaína é muito importante para uma apropriada função renal, na divisão celular e na reação de desintoxicação. Além do mais, a betaína também exerce um papel importante na formação da carnitina e serve para proteger os rins contra danos (Chambers, 1995).

A betaína tem sido reportada também pelo seu papel de reduzir os níveis sanguíneos de homocisteína, um produto tóxico do metabolismo dos aminoácidos. Quando em altas concentrações acredita-se que a homocisteína promove arteriosclerose e osteoporose. Os principais

nutrientes envolvido no controle dos níveis da homocisteína são o ácido fólico e as vitaminas B6 e B12. A betaína é útil para algumas pessoas que apresentam elevado nível de homocisteína e que não melhoram mesmo com fornecimento de outros nutrientes. Além disso, ela tem sido eficaz em certas desordens genéticas raras, envolvendo o metabolismo da cisteína (Wilcken et al., 1983; Gahl et al., 1988; Barak et al., 1996; Selhub, 1999).

Entretanto, em situações normais ou com suplementação de outros doadores metílicos, a betaína não produz nenhum efeito sobre os níveis de homocisteína (Selhub, 1999; VanGuldener et al., 1999). Seu uso primário como um suplemento nutricional está em oferecer ao fígado condições para um apropriado funcionamento. Assim é freqüente referir-se a betaína como um fator lipotrópico, devido à sua habilidade em auxiliar o fígado no controle dos processos gordurosos. Em estudos com animais, a suplementação com betaína tem mostrado proteção ao fígado contra os danos químicos. Como resultado da ingestão de bebidas alcoólicas, o primeiro estágio de dano para o fígado em humanos, é o acúmulo de gordura em seu interior (Barak et al., 1993; Junnila et al., 1998; Kim et al., 1998; Murakami et al., 1998). Por esse motivo, a betaína tem sido estudada em avaliações clínicas conduzidas em vários países, no tratamento de doenças relacionadas ao álcool (Cachin & Pengola, 1966; Cairella & Volpari, 1972; Nicrosini, 1972; Babucke & Sarre, 1973; Hilt & Tuzin, 1973; Kandziora, 1976; Semmler, 1977).

Barak et al. (1996, 1997) relataram que a betaína, por seu efeito lipotrópico, tem mostrado produzir uma melhora significativa nas condições dos casos clínicos severos em humanos com comprometimento hepático.

Além do mais, a betaína também tem se mostrado como um promissor ingrediente de pastas de dente, uma vez que produz uma significativa sensação de frescor na boca (Soderling et al., 1998).

2.5. Metionina

A metionina (peso molecular 149,21) é um aminoácido essencial, necessário para promover um crescimento e desenvolvimento normais. Apresenta três funções básicas: 1- é utilizada para síntese protéica; 2- é convertida para S-adenosil-metionina ou 3- é convertida para cistationina, cisteína ou derivados de cisteína (Finkelstein & Mudd, 1967). Com relação à segunda função citada, após a metionina ser convertida em S-adenosil-metionina é posteriormente transformada em S-adenosil-homocisteína e então em homocisteína (Finkelstein & Mudd, 1967). A homocisteína então irá seguir um dos dois caminhos: 1- reconversão para metionina pela ação da betaína ou pela rota do tetrahydrofolato; ou 2- irreversivelmente ser convertida para cisteína (Finkelstein & Mudd, 1967). Em decorrência desses caminhos da metionina é que tem sido estudada a utilização de betaína como um substituto de parte da metionina na nutrição animal (Campbell et al., 1995; Smolin & Benevenga, 1989).

Pelo fato de uma grande quantidade de metionina ser reciclada a partir da homocisteína, via remetilação, a suplementação alimentar usualmente provê um excesso de 60% (Scott, 1999). Assim, quando as reações de remetilação são inadequadas, os níveis funcionais de metionina podem tornar-se muito baixos, resultando em um menor nível de S-adenosil-metionina.

A inter-relação metabólica entre metionina, homocisteína e a cist(e)ina (cistina/cisteína) são extensas. A metionina pode ser metabolizada via transulfuração para formar homocisteína e cisteína ou pela rota transaminativa. Além dessas rotas para síntese protéica, o grupo metílico da metionina, como S-adenosil-metionina (SAM), participa de numerosas reações de metilação e o esqueleto de carbono da metionina é utilizado para a síntese de várias aminas (Stipanuk, 1986).

2.6. O papel da betaína na metilação da homocisteína

A betaína apresenta um importante papel na transferência de grupos metílicos para homocisteína, culminando em metionina. Assim, como um metil doador, a betaína permitiria conservar a taxa de metionina durante o período de inadequada ingestão de metionina em aves e suínos (Finkelstein, 1990; Virtanen & Rumsey, 1996).

A homocisteína é um aminoácido sulfurado que apresenta um papel central no metabolismo de um carbono e nas reações de metilação. A transferência de um grupo metil, da metil-tetrahidro-folato para a homocisteína, cria a metionina que por fim doa grupos metílicos para a metilação do DNA, lipídios, proteínas e muitos outros metabólicos intracelulares. Pode também ser metabolizada através do caminho da transulfuração para cisteína, que é eventualmente excretada na urina. Esse aminoácido sulfurado é um composto altamente reativo que é conhecido devido aos seus danos oxidativos quando presente em altas concentrações (Refsum et al., 1998).

A homocisteína está associada a doenças vasculares (McCully, 1969; Clarke et al., 1991; Refsum et al., 1998; Welch & Loscalzo, 1998), defeitos de nascimento como espinha bífida (Steggens-Theunisen et al., 1994) e doenças neurodegenerativas tal qual a doença de Alzheimer (Clarke et al., 1998; Muller, 1999).

Não obstante, os níveis elevados de homocisteína têm sido associados com arterioscleroses e trombooses (Refsum et al., 1998).

Portanto, há um grande interesse em se prescrever a betaína como medicamento, devido à sua importância na metilação da homocisteína (Barak et al., 1993, 1997).

2.7. Colina

A betaína está extremamente relacionada com a colina. A diferença é que a colina (tetrametil-glicina) apresenta quatro grupos metílicos acoplados a ela. Contudo, ao doar um grupo metil para outra molécula, ela se torna uma betaína (trimetil-glicina). Se a betaína doa um de seus grupos metílicos, então ela se torna em dimetil-glicina (Campbell et al., 1995).

A colina é essencial para a prevenção do fígado graxo e de peroses em aves, e em frangos de corte alimentados com dietas a base de milho e soja. Mesmo atendendo as recomendações do NRC (1994), ainda assim as dietas são suplementadas com colina, visando um máximo crescimento (Molitoris & Baker, 1976 abc).

Além disso, ela é um componente essencial na dieta e um importante metabólico para várias funções celulares, particularmente nas células neurais. A colina é o maior componente dos fosfolipídeos e esfingomielina e participa diretamente de neurotransmissores como acetil-colina (Yoder et al., 1997). Zeisel et al. (1989) concluíram que deficiências em colina na dieta de ratos causam a uma diminuição do S-adenosil-metionina em seus tecidos.

A colina apresenta três importantes funções metabólicas: 1- por si para a síntese do neurotransmissor acetilcolina; 2- por si para a síntese de fosfatidilcolina (lecitina) e outros complexos de colina contendo fosfolipídios; e 3- como uma fonte de grupos metílicos, via betaína, para a síntese de vários metabólicos metilados (Zeisel et al., 1989, 2003; Yoder et al., 1997).

A síntese hepática é normalmente suficiente para produzir toda a colina necessária para a maioria dos animais, mas pode ser insuficiente para aqueles que apresentam rápido crescimento. Para a sua síntese necessita que haja grupos metílicos disponíveis (Hove et al., 1954; Kroening & Pord, 1967; Anderson et al., 1979; Baker et al, 1982; Rumsy, 1991).

A colina como um precursor da betaína é uma fonte de metil para a metilação da homocisteína (Kramar et al, 1984; Zhang et al., 1992; Chern & Pietruszko, 1999). Ishidate (1989) observou que o fígado converte acima de 60% da colina livre em betaína, sugerindo que a colina pode ter um significativo papel nas reações de metilação.

2.8. Betaína: uma ativa forma metilada da colina

Como um metil doador, a metionina, entra na via metabólica através da oxidação da colina. Toda betaína do organismo é derivada da colina, quando não há nenhuma suplementação pela dieta (Finkelstein et al, 1983; McKeever et al., 1991; Chadwick et al., 2000).

Juntamente com a metionina, a colina tem sido historicamente usada como uma principal fonte de grupos metílicos nas dietas práticas de animais. Contudo, a literatura mostra que a eficiência da colina às reações de

metilação é altamente variada, como até ineficiente (Molitoris & Baker, 1976c; Baker, 1984; Lowry et al. 1987).

A colina por si não pode atuar como um doador de metil, mas deve ser primeiramente convertida em betaína, após duas etapas de reações oxidativas (Kramar et al, 1984; Zhang et al., 1992; Chern & Pietruszko, 1999). Essa oxidação da colina em betaína acontece em mitocôndrias, e finalmente é conduzida de volta ao citosol onde pode funcionar como um doador de metil (Mann et al., 1938). Assim, tem sido amplamente aceito que a betaína pode substituir a colina como doador de grupos metílicos (Ludke et al. 1994).

De acordo McDougald & Reid (1990) é altamente provável que a ineficiência de conversão de colina para betaína pode ser exacerbada por ionóforos. Esses compostos, mundialmente usados na alimentação animal, são utilizados como droga para o tratamento da coccidiose em várias espécies, incluindo frangos de corte. Os ionóforos aparentam inibir a oxidação de colina em betaína, o passo necessário para produzir um grupo metil lábil, por interferir com o transporte da membrana mitocondrial (Tyler, 1977).

2.9. Betaína: um protetor osmótico

A betaína não é tóxica e encontra-se naturalmente distribuída em um largo número de espécies de plantas e animais (Budavari, 1996). A maior parte das plantas e organismos animais utilizam a betaína como uma fonte

de grupo metil para reações de metilação importantes ao metabolismo e exemplo disso é a osmoproteção (LeRudulier et al, 1984). Os melhores acúmulos de betaína encontram-se: nas plantas da família da beterraba (*Chenopodiaceae*), em muitos microorganismos e em quase todas os invertebrados de água doce e salgada (Konosu & Hayashi, 1975).

A betaína é encontrada naturalmente nas células animais que atuam na regulação do equilíbrio osmótico. Tem sido reconhecido que muitas células (animal, plantas e procaríotes) se adaptam a estresse osmótico externo pelo acúmulo de solutos de baixo peso molecular como as aminas metiladas, certos aminoácidos e açúcares alcoólicos (Wunz & Wright, 1993). Embora íons inorgânicos como o sódio, potássio e cloro sejam também importantes constituintes dessas respostas adaptativas, o nível deles nas concentrações intracelulares é também limitada, pois apresentam efeitos desestabilizantes sobre a estrutura da proteína e em funções enzimáticas (Burg, 1994; Petronini et al, 1992, 1994).

Vários trabalhos testificam que a betaína tem uma função abrangente no fisiologismo celular, não sendo somente um mero doador metil. Yancey et al.(1982) e Dragolovich (1994) afirmaram que a betaína como um amino-metilado pode ser acumulada, não perturbando o metabolismo celular; e mesmo quando em altas concentrações é compatível com as funções enzimáticas. Uma das mais importantes funções associadas com o acúmulo de betaína nos tecidos e células é a sua habilidade em estabilizar a função metabólica da célula, em condições de diferentes tipos de estresses abióticos. Ou seja, extrema temperatura e concentrações de sais tendem a

alterar a estrutura das enzimas, deixando-as inativadas. Portanto a betaína protege as enzimas das mudanças estruturais e as mantém ativadas (Yancey et al, 1982; LeReclulier et al, 1984).

A betaína, em contraste com íons inorgânicos como o sódio, o potássio e o cloro, é altamente compatível com as funções enzimáticas. Assim, a betaína, estabiliza proteínas e membranas e estabiliza a pressão osmótica na presença estresse celular por aumento da temperatura (Hanson et al., 1994).

2.10. Betaína na nutrição de aves

Em nutrição de aves, a principal função da betaína é o seu papel como doadora de grupo metil. Uma vez que as aves, assim como outros animais, não são capazes de sintetizar grupo metil, portanto esse deve ser provido pela dieta. Do mesmo modo que a betaína, outros bem conhecidos doadores de grupo metil, como a colina e a metionina, que por apresentarem específicas funções se tornam insubstituíveis. Um balanço correto entre betaína, colina e metionina na dieta é importante para otimizar o desempenho desses animais (Kidd et al., 1997).

A betaína é mais efetiva do que a colina como um direto doador de metil. Stekol et al. (1953) reportaram que em aves, a betaína metila a homocisteína para metionina, sendo aproximadamente três vezes mais eficiente do que a colina. Além do mais, ionóforos coccidiostáticos, quando presentes, podem reduzir a eficiência da colina como um doador de metil (Tyler, 1977).

O requisito específico para a colina em frangos de corte foi definido a partir dos estudos de Baker et al. (1982) e Lowry et al (1987) os quais indicaram como níveis ideais entre 400-600 ppm.

Em alimentos comerciais para aves a quantidade de colina a partir de material vegetal normalmente apresenta de 1000-1500ppm, dos quais 60 a 70% são disponíveis (Molitoris & Baker, 1976c). Portanto, em dietas práticas o requisito específico para colina pode ser usualmente atingido com o próprio aporte de colina dos alimentos. Observou-se, entretanto, que a substituição da colina em dietas suplementadas por betaína não tem nenhum efeito adverso sobre o desempenho em aves comerciais (Pesti et al., 1981).

A metionina é necessária na síntese de proteínas, sendo ainda utilizada para reações de metilação. A betaína é também capaz de diminuir a necessidade da metionina suplementada, pois a betaína é um eficiente doador de metil, que metila a homocisteína em metionina (Ruiz et al., 1983).

De acordo com Saunderson & Mackinlay (1990) a betaína como todos os doadores de grupo metil é conhecida pela sua atividade lipotrópica. A betaína tem sido mostrada por diminuir a gordura de carcaça em frangos e tem apresentado redução na quantidade de lipoproteínas de densidade muito baixa (LDMB) que positivamente correlacionam-se com a redução dessa gordura (Virtanen & Rosi, 1995).

Os grupos metílicos são necessários nas reações metabólicas, dentre as quais ocorrem as síntese de carnitina e creatinina. Além da possibilidade

da betaína poder poupar a metionina, ela também pode atuar como fonte extra de grupos metílicos, o que seria muito interessante no metabolismo dos lipídios, visando estimular o catabolismo oxidativo dos ácidos graxos, via síntese de carnitina. Dessa forma, procura-se a redução da gordura da carcaça na produção comercial de frangos de corte (Schutte et al., 1997).

2.11. Coccidiose e nutrição de aves

A coccidiose é uma doença severa especialmente para frangos de corte. Durante a infecção coccidia, a taxa de absorção de nutrientes é reduzida e, como resultado, o crescimento é retardado e a eficiência alimentar é prejudicada. Jeng & Edgar (1981) mostraram que aves sofrendo de coccidiose, apresentaram baixa digestibilidade de proteínas e carboidratos quando comparadas com não infectadas. Segundo esses autores, a excreta de aves infectadas com coccídea possuía maior quantidade de partículas de alimento. É geralmente reconhecido que a coccidiose diminui a absorção de carotenóides, resultando em uma maior ocorrência de frangos pálidos.

Kettunen et al. (2001a) concluíram que mesmo com um aprimoramento qualitativo da alimentação, uma melhoria na sanidade e o uso de vacinas contribuam no controle da coccidiosa, a medicação profilática dos frangos de corte a partir de um dia de idade com drogas anticoccidianas, permanece como a primeira arma contra esse parasita.

Conforme Ruff (1978) a má digestão, a má absorção e a desidratação se apresentam como resultados dos danos teciduais produzidos pelo

parasita. Uma absorção deficiente de aminoácidos, carboidratos e carotenóides afetam o ganho de peso, a conversão alimentar e a sobrevivência, quando frangos de corte são infectados por diferentes espécies intestinais de coccídea.

Em adição à influência na concentração iônica intracelular do parasita, ionóforos coccidiostáticos provavelmente também alteram o balanço iônico do hospedeiro. Dessa forma, a betaína poderia como osmoprotetor controlar estas mudanças (Kidd et al. 1997). A coccidiose não apenas afeta o balanço iônico do intestino como também afeta a sua morfologia, por promover seu encurtamento ao mutilar a vile intestinal (Gwyther & Britton, 1989; Allen, 1984; Ruff & Allen, 1990).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Três experimentos foram conduzidos com o objetivo de determinar a biodisponibilidade de betaína em frangos de corte.

O primeiro experimento avaliou dietas com níveis superiores e inferiores à recomendação nutricional em metionina do NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC, 1994) e a influência da betaína nessas condições.

Conduziu-se o segundo experimento para caracterizar a influência da suplementação de fontes metílicas, principalmente com níveis abaixo do preconizado pelo NRC (1994) em metionina + cistina, com o objetivo de avaliar distintas curvas de desempenho para a metionina e a betaína.

Portanto, tomando-se por base os resultados dos dois primeiros experimentos, um terceiro foi realizado para comparar o desempenho de frangos de corte submetidos a vários níveis de suplementação de grupos metílicos e a combinação desses, com níveis em metionina + cistina abaixo e acima dos recomendados pelo NRC (1994).

Frangos de corte com um dia de idade (Arbor Acres x Arbor Acres) foram usados nos três experimentos (denominados de I, II e III). As aves foram aneladas na asa e alojadas em baterias metálicas eletricamente aquecidas, com piso de malha de aço. Luz artificial foi provida por 24 h/dia. A ração e a água foram fornecidas *ad libitum*.

Os experimentos foram conduzidos em baterias tipo Petersime, dotadas de ajuste central de temperatura, instaladas em uma sala climatizada. Cada bateria possuía seis andares, divididos em quatro

compartimentos. A temperatura foi de 35°C para os três primeiros dias e posteriormente decrescida em 2°C a cada três dias, até 24°C, na qual foi mantida.

Antes do alojamento das aves, foram obtidos os pesos médios, que serviram de parâmetro para a composição das parcelas, tolerando-se uma variação de 2,5% acima ou abaixo do peso médio.

Ao final de cada experimento, as aves e as sobras de ração foram pesadas, segundo cada parcela experimental (Box). Os dados de consumo de ração foram ajustados de acordo com a mortalidade, segundo a base de ave/dia.

O ganho de peso foi determinado pela diferença entre o peso das aves no final da fase experimental (21 dias de idade) e o peso inicial das aves ao primeiro dia de idade.

A conversão alimentar foi obtida pela relação entre o consumo de ração durante a fase experimental e o ganho de peso no período. Para o cálculo da conversão alimentar computou-se o peso das aves que morreram.

Ao final do período experimental, após a pesagem das parcelas, as aves foram escolhidas ao acaso para avaliação da gordura abdominal, sendo individualmente pesadas.

Três aves de cada parcela experimental foram sacrificadas ao acaso, sendo asfixiadas com dióxido de carbono, e posteriormente a gordura abdominal foi removida, pesada e avaliada em porcentagem de peso corporal. A gordura analisada incluiu toda aquela que pôde ser manualmente retirada da cavidade abdominal, incluindo a gordura aderida à moela,

envolvida próxima a bursa de Fabrícus, à cloaca e adjacente à musculatura, mas não a mesentérica ou a gordura perineal, conforme critérios propostos por Esteve-Garcia & Mack (2000).

A dieta basal dos experimentos foi formulada para atender todos os requisitos do NRC (1994) com a exceção dos níveis de metionina+cistina.

A dieta foi elaborada à base de milho e farelo de soja (Tabela1), contendo 1.896; 1.969 e 2.010 mg/kg de colina, nos experimentos I, II e III, respectivamente.

Os níveis suplementados em betaína [Sigma[®]/Betaína HCl (99%) com 75,5% de betaína] e metionina [Sigma[®]/DL metionina (98%)] foram isomolares, tendo como base de conversão o miligrama. O experimento I (fêmeas até 21 dias de idade) constou de seis níveis de suplementação em metionina (0; 5,36; 10,72; 16,08; 21,45; 32,17 mMol/kg) e dois níveis de suplementação em betaína (0 e 5,36 mMol/kg) (Tabela 2). No experimento II (machos até 21 dias de idade) a dieta controle foi suplementada com 0; 2,68; 5,36; 8,04; 10,72 ou 13,40 mMol/kg de metionina ou 0; 2,68; 5,36; 8,04; 10,72 ou 13,40 mMol/kg de betaína (Tabela 3). Em relação ao experimento III (machos até 21 dias de idade) houve quatro níveis de suplementação de metionina (0; 8,04; 10,72 e 13,40 mMol/kg) e três níveis de suplementação de betaína (0; 6,7 e 13,4 mMol/kg) (Tabela 4).

O teor de proteína bruta foi avaliado pelo aparelho Leco CNS-2000 analyser. A colina foi mensurada pelo método preconizado por Menten et al. (1997).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso (Exp. I e III) com quatro repetições em esquema fatorial 6x2 (seis níveis metionina e dois betaína) para o experimento I; e um fatorial 4x3 (4 níveis de metionina e 3 de betaína) para o experimento III. Em relação ao experimento II, o delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com 11 tratamentos e quatro repetições, com exceção do tratamento testemunha que apresentou oito repetições.

Todas as análises estatísticas foram conduzidas utilizando-se o Modelo Linear Geral (GLM) segundo o procedimento do SAS[®] (SAS Institute, 1985).

As interações e os efeitos principais foram determinados segundo os valores de F. Os dados em porcentagem (gordura abdominal) foram transformados em arco seno da raiz quadrada, com a finalidade de estabilizar a variância. Quando houve significância dos valores de F ($F < 0,05$), utilizou-se o teste de Duncan para determinar as diferenças entre as médias (Duncan, 1955).

Os dados obtidos nos três experimentos foram utilizados para obtenção de análises de regressão. As regressões foram computadas usando também o Modelo Linear Geral (GLM).

No experimento III foi utilizada uma análise de superfície, assim o requisito em fontes metálicas foi determinado com a aplicação da referida análise, segundo Rudolf & Ramon (1995).

Quanto à avaliação da biodisponibilidade, adotou-se as recomendações de Littell et al. (1995), através da determinação dos valores de regressão (b) das equações obtidas para as fontes estudadas.

Tabela 1. Composição porcentual das dietas fornecidas às aves durante o período experimental, calculada e por análise.

INGREDIENTES	(%)		
Milho, grão	53,500		
Farelo de soja-48	37,710		
Óleo de soja	5,540		
Fosfato tricálcico	1,980		
Calcário calcítico	0,670		
Sal comum	0,400		
Sulfato de cobre (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	0,075		
Premix mineral ¹	0,075		
Premix vitamínico ²	0,050		
ANÁLISE CALCULADA³			
Proteína bruta (%)	23,00		
Energia Met. (kcal/g)	3,20		
Ca (%)	1,00		
Fósforo disp. (%)	0,50		
Lisina (%)	1,34		
Metionina (%)	0,37		
Met + Cistina (%)	0,74		
Na (%)	0,20		
Arginina (%)	1,59		
Composição por Análise			
Experimento #	I	II	III
Proteína (%)	22,79	22,84	22,89
Colina (mg/kg)	1.895,70	1.969,60	2.010,00

¹ Premix mineral proveu em mg por kg da dieta: Mn, 75; Zn, 60; Fe, 40; Cu, 6; I, 2; Se, 0,1.

² Premix vitamínico proveu por kg da dieta: vitamina A, 5.500 UI; vitamina D₃, 1.100 UI; vitamina E, 11 UI; riboflavina, 4,4 mg; pantotenato de cálcio, 12 mg; ácido nicotínico, 44 mg; vitamina B₁₂, 6,6 µg; vitamina B₆, 2,2 mg; menadiona, 1,1 mg; ácido fólico, 0,55 mg; d-biotina, 0,11 mg; tiamina, 1,1 mg; etoxiquin, 125 mg.

³ Segundo as tabelas do NRC (1994).

Tabela 2. Tratamentos do experimento I, segundo a combinação de níveis de suplementação de metionina e betaína.

Tratamento	Metionina+cistina			Betaína		Rep
	mMol/kg	%	NRC(%)*	mMol/kg	mg/kg	
1	0	0,74	82	0	0	4
2	5,36	0,82	91	0	0	4
3	10,72*	0,90	100	0	0	4
4	16,08	0,98	109	0	0	4
5	21,45	1,06	118	0	0	4
6	32,17	1,22	135	0	0	4
7	0	0,74	82	5,36	628,11	4
8	5,36	0,82	91	5,36	628,11	4
9	10,72	0,90	100	5,36	628,11	4
10	16,08	0,98	109	5,36	628,11	4
11	21,45	1,06	118	5,36	628,11	4
12	32,17	1,22	135	5,36	628,11	4

- Proporcionalidade de suplementação, segundo o nível recomendado pelo NRC (1994).
- Rep: número de repetições

Tabela 3. Tratamentos do experimento II, segundo a combinação de níveis de suplementação de metionina e betaína.

Tratamento	Metionina+cistina		Betaína		Rep
	mMol/kg	mg/kg	mMol/kg	mg/kg	
1	0	0	0	0	4
2	2,68	400	0	0	4
3	5,36	800	0	0	4
4	8,04	1.200	0	0	4
5	10,72*	1.600	0	0	4
6	13,40	2.000	0	0	4
7	0	0	2,68	314	4
8	0	0	5,36	628	4
9	0	0	8,04	942	4
10	0	0	10,72	1.256	4
11	0	0	13,40	1.570	4

- Nível recomendado pelo NRC (1994).
- Rep: número de repetições

Tabela 4. Tratamentos do experimento III, segundo a combinação de níveis de suplementação de metionina e betaína.

Tratamento	Metionina+cistina		Betaína		Rep
	mMol/kg	mg/kg	mMol/kg	mg/kg	
1	0	0	0	0	4
2	8,04	1.200	0	0	4
3	10,72*	1.600	0	0	4
4	13,40	2.000	0	0	4
5	0	0	6,7	785	4
6	8,04	1.200	6,7	785	4
7	10,72	1.600	6,7	785	4
8	13,40	2.000	6,7	785	4
9	0	0	13,4	1.570	4
10	8,04	1.200	13,4	1.570	4
11	10,72	1.600	13,4	1.570	4
12	13,40	2.000	13,4	1.570	4

- Nível recomendado pelo NRC (1994).
- Rep: número de repetições

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. EXPERIMENTO I

A Tabela 5 mostra as respostas do consumo de ração, do ganho de peso, da conversão alimentar e da gordura abdominal para a suplementação com DL-metionina e betaína HCl. Pode ser observado que a dieta testemunha (controle sem suplementação) foi claramente deficiente em aminoácidos sulfurados (metionina+cistina), e que ao ser suplementada em metionina evidenciou uma significativa resposta: no consumo de ração ($P<0,01$), na melhora da conversão alimentar ($P<0,0001$) e no decréscimo de deposição de gordura abdominal ($P<0,02$). Contudo a suplementação em betaína, per se, não afetou significativamente nenhum dos parâmetros avaliados, entretanto houve uma interação significativa quanto ao ganho de peso ($P<0,001$), quando se fez a suplementação com betaína e metionina.

Logo, em análise distinta para cada tratamento, verificou-se efeito significativo sobre o ganho de peso até o ponto em que os níveis recomendados de aminoácidos sulfurados do NRC (1994) foram atendidos em 100% (Tabela 5), sendo que acima desse nível de necessidade, tanto a suplementação de metionina e betaína não se mostraram mais favoráveis.

Na Figura 2 pode ser visualizada, em relação ao ganho de peso, a existência da interação entre metionina x betaína. Assim as diferenças de desempenho devido às suplementações com metionina, essas foram mais evidentes na dieta com suplementação com betaína. Portanto, o ganho de peso das aves suplementadas em betaína foi superior, enquanto o nível de

aminoácidos sulfurados recomendado pelo NRC (1994) não foi atendido, não havendo mais diferenças a partir desse momento.

O fato do ganho de peso das aves reagir mais sensivelmente, as dietas com suplementação em betaína (Figura 2) se justifica pelo seu conteúdo total em grupos metílicos, ou seja, quando foi igualado o total em mMol/kg suplementado (metionina+betaína) o ganho de peso tornou-se significativamente semelhante; assim, a metionina e a betaína, respectivamente com suplementações de 0+5,36 e 5,36+0 (91% NRC) e de 5,36+5,36 e 10,72+0 (100%NRC) apresentaram ganhos de peso aproximados até esse ponto, sendo que a partir deste nível (100% NRC) não foram mais relevantes (Tabela 5).

A betaína, a colina e a metionina podem ser fontes de grupos metílicos (-CH₃). A literatura aguarda resultados conclusivos quanto ao benefício da suplementação de fontes de grupos metílicos. Como as aves, a partir de 14 dias de idade, apresentam a habilidade de sintetizar colina (Baker & Sugahara, 1970), tendo a betaína como seu precursor, assim, em dietas práticas até 3 semanas de idade seria ainda limitante a deficiência de grupos metílicos, o que foi evidenciado no presente experimento, quanto ao ganho de peso.

Segundo o presente experimento, a betaína não foi capaz de compensar a deficiência em metionina da dieta, uma vez que a betaína, como efeito principal na análise estatística, não apresentou significância para nenhum dos parâmetros estudados (Tabela 5).

O consumo de ração foi afetado significativamente apenas para a suplementação de metionina quando comparado ao grupo testemunha, com exceção da suplementação com 16,08 mMol/kg, que apresentou um resultado intermediário em relação à maioria das suplementações. Assim a suplementação em metionina estimulou o consumo.

O menor consumo, com o uso de dietas deficientes ou mesmo com excesso de metionina foi constatado por Khalil et al. (1968). Conforme McLeod (1982), quando uma dieta está deficiente em um específico aminoácido, os outros se acumulam no sangue e prejudicam o apetite. Steinruck et al. (1990) verificaram que frangos, quando em condições de livre escolha, rejeitaram as dietas deficientes em metionina, evidenciou que a ingestão desse aminoácido está sujeita ao controle fisiológico. Conforme Summers & Leeson (1985), dietas marginalmente deficientes em metionina aumentam o consumo de ração, enquanto deficiências mais severas o inibem. Assim, no presente experimento o grau de deficiência pôde ser considerado como crítico, uma vez que houve queda na ingestão.

Pelo fato da metionina regular o consumo, as exigências em metionina e aminoácidos sulfurados totais são maiores para a obtenção da eficiência máxima de utilização dos alimentos do que para otimizar o ganho de peso (Schutte & Pack, 1995). Por outro lado, o excesso de metionina prejudica o desempenho (Edmonds & Baker, 1987), provocando desaminação e excreção de nitrogênio, o que contribui para a excreção do primeiro aminoácido limitante, incrementando a sua exigência (Parr & Summers, 1991). Contudo, no presente experimento os níveis de metionina

mesmo quando acima da recomendação do NRC em 35% (Tabela 2), não se mostraram prejudiciais ao ganho de peso e demais parâmetros estudados (Tabela 5, Figura 2).

Houve interação significativa ($P < 0,0010$) para o ganho de peso, mostrando a dependência entre as fontes de suplementação (metionina e betaína). Assim, essa interação ficou bem evidenciada na dependência do nível preconizado pelo NRC (1994), ou seja, ao atingir os níveis de necessidade, quanto aos níveis de met+cist em mMol, ambas as suplementações se estabilizaram (Figura 2). Contudo abaixo do nível recomendado (condição de deficiência) a presença da suplementação em betaína favoreceu o ganho de peso, originando assim a interação constatada.

Os resultados obtidos mostraram que, para a fase de 1 a 21 dias, a utilização de níveis de metionina superiores aos recomendados pelo NRC (1994) não favoreceram o melhor desempenho dos frangos de corte, estando de acordo com os resultados relatados por Scheuermann et al. (1995). Especificamente quanto ao ganho de peso, o incremento na suplementação em metionina, além dos níveis preconizados pelo NRC (1994), não favoreceram esse parâmetro.

A conversão alimentar foi afetada significativamente ($P < 0,0001$) apenas pela suplementação em metionina, tendo sido favorável a suplementação quando comparada à do grupo controle.

Foi obtida a melhor conversão alimentar, com um teor de metionina de 16,08 mMol/kg, valor esse superior a recomendação do NRC (1994).

Hickling et al. (1990) e Schevermann et al. (1995) também verificaram melhoria da conversão alimentar pela suplementação de metionina acima do preconizado pelo NRC (1994).

Na prática é de interesse a otimização do ganho de peso e da conversão alimentar, desde que se justifique economicamente.

Houve uma tendência para que a suplementação em metionina evidenciasse uma menor deposição em gordura abdominal, sendo que para os níveis com suplementação em 10,32 e 21,45 mMol/kg apresentaram significativamente os menores valores percentuais, quando comparados aos do grupo controle. Entretanto, esses resultados foram em parte discordantes dos encontrados por Schevermann et al. (1995), por não constatarem efeito do nível de metionina sobre a deposição de gordura abdominal.

Tabela 5. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaína (Bet) em relação ao consumo de ração, ganho de peso, conversão alimentar e gordura abdominal, em fêmeas de frango de corte aos 21 dias de idade¹.

Tratamento	Consumo de ração g	Ganho de Peso g	Conversão alimentar g/g	Gordura abdominal %		
Efeito principal						
Metionina (mMol/kg)						
0	867,5 c	612,3	1,42 a	1,63 a		
5,36	930,6 ab	685,7	1,36 b	1,43 ab		
10,72	929,2 ab	696,2	1,34 b	1,33 b		
16,08	898,2 bc	700,2	1,28 c	1,44 ab		
21,45	917,2 ab	695,4	1,32 bc	1,28 b		
32,17	941,9 a	710,1	1,33 b	1,42 ab		
Efeito principal						
Betaína (mMol/kg)						
0	911,2	677,8	1,35	1,45		
5,36	917,8	690,7	1,33	1,39		
Interação						
Met	Bet	Met+cist (%)				
	(mMol/kg)					
0	0	0,74	836,6	582,1e	1,44	1,62
0	5,36	0,74	908,6	652,6 d	1,39	1,64
5,36	0	0,82	922,2	670,1cd	1,38	1,47
5,36	5,36	0,82	939,0	701,4 abc	1,34	1,39
10,72*	0	0,90	939,7	712,4ab	1,32	1,43
10,72	5,36	0,90	918,6	679,9 bcd	1,35	1,23
16,08	0	0,98	897,5	691,8 abc	1,29	1,47
16,08	5,36	0,98	898,9	708,7ab	1,27	1,42
21,44	0	1,06	929,2	700,8 abc	1,32	1,25
21,44	5,36	1,06	905,2	689,9 abc	1,31	1,30
32,16	0	1,22	952,5	720,5 a	1,32	1,44
32,16	5,36	1,22	934,1	702,3 abc	1,33	1,41
Fontes de variação			Probabilidade			
Met			0,0117	0,0001	0,0001	0,0249
Bet			0,6865	0,1549	0,2332	0,4025
Met*Bet			0,1459	0,0010	0,3486	0,8526
C.V (%)			4,02	3,22	2,77	13,34
R ²			0,46	0,78	0,65	0,34

¹-Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

* Nível de necessidade preconizado pelo NRC.

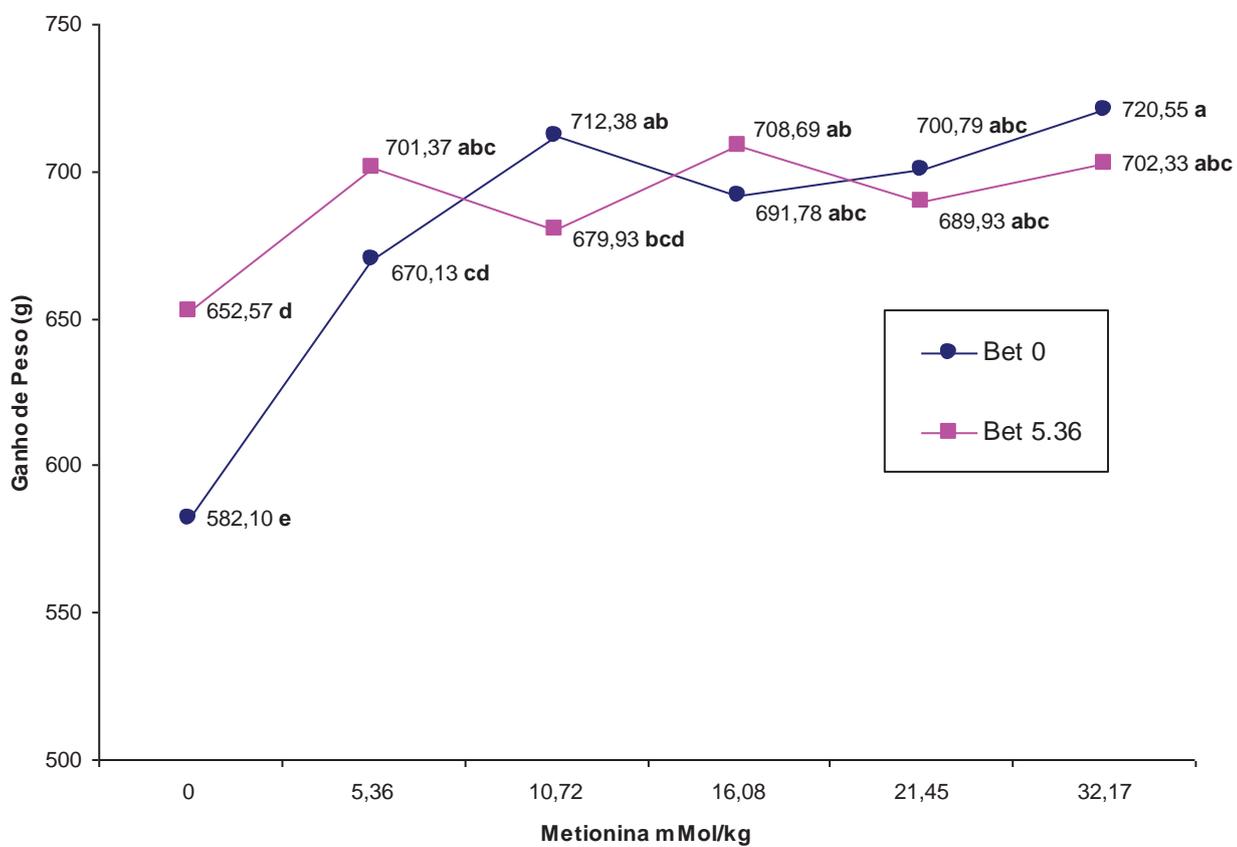


Figura 2. Ganho de peso das aves (g) segundo à suplementação de metionina na ração, para cada nível de betaína.

4.2. EXPERIMENTO II

A dieta controle, sem suplementação de metionina ou de betaína, mostrou significativamente o pior resultado de ganho de peso ($P < 0,003$). Contudo, apesar de não ocorrer diferenças entre os valores “mMol” correspondentes (2,68x2,68; 5,36x5,36; 8,04x8,04; 10,72x10,72 e 13,40x13,40 mMol/kg) respectivamente, de metionina e betaína; numericamente os resultados para a suplementação em metionina sempre se mostraram superiores. Assim foi coerente que os valores observados para as inclinações das curvas obtidas fossem significativamente mais favoráveis para a metionina ($P < 0,007$), uma vez que ambas as suplementações demonstraram melhora no ganho de peso com os acréscimos das fontes de grupos metílicos na dieta. (Tabela 6).

O ganho de peso, avaliado em níveis marginais, isto é, abaixo das necessidades preconizadas pelo NRC (1994), apresentou ganho significativo para todos os níveis de suplementação em metionina, entretanto houve resposta significativa apenas para o nível de 13,40 mMol/kg de betaína, quando comparado ao do grupo controle (Tabela 6).

Esses resultados são concordantes com vários relatos de pesquisa, nos quais os níveis mais altos de metionina influenciaram positivamente o ganho de peso (Jensen et al., 1989; Mendonça & Jensen, 1989; Schutte & Pack, 1995; Barboza et al., 1998; Pesti et al., 1999).

Não foi verificada nenhuma influência para a suplementação de metionina ou de betaína para o consumo de ração (Tabela 6), contrariando

alguns resultados encontrados na literatura, cujos níveis mais altos de metionina aumentaram o consumo (Mendonça & Jensen, 1989, Pesti et al., 1999).

O efeito das dietas suplementadas em metionina e betaína, quanto à conversão alimentar (Tabela 7), demonstraram uma tendência de piores resultados para os menores valores de suplementação ($P < 0,001$). Tais resultados foram reforçados pela constatação de que para cada unidade em mMol de suplementação em metionina e betaína, significativamente melhorou em 0,0078 e 0,0140 unidades os valores para a conversão alimentar.

Esses resultados evidenciam que a conversão alimentar está na dependência de níveis de suplementação em metionina e não de grupos metílicos. Assim, níveis crescentes de metionina, e principalmente quando acima dos níveis preconizados pelo NRC (1994), afetaram significativamente a conversão alimentar.

Não houve efeito significativo para os diferentes níveis de suplementação em metionina e betaína, quanto à deposição de gordura abdominal na carcaça das aves. Entretanto, quando o nível de suplementação em metionina foi superior ao nível recomendado pelo NRC (1994) evidenciou-se o menor teor de gordura abdominal (Tabela 7).

A manifestação dos efeitos de níveis adicionais de metionina, em relação à gordura abdominal, confirma alguns resultados encontrados na literatura, nos quais níveis acima dos recomendados pelo NRC (1994), reduziram a gordura abdominal (Jensen et al., 1989; Mendonça & Jensen,

1989; Hickiking et al. 1990; Silva et al., 1996; Silva et al., 1997; Albino et al., 1999).

A análise de regressão para o ganho de peso mostrou efeito significativo para ambas suplementações (metionina e betaína) com ângulo de inclinação (b) de 9,36 ($P < 0,0001$) e 4,68 ($P < 0,0088$), respectivamente para a metionina e betaína. Foi ainda constatado diferenças significativas entre os ângulos de inclinação ($P < 0,0078$), demonstrando que a metionina foi superior, ou seja, para cada unidade em mMol suplementada de betaína e metionina, respectivamente proporcionou um aumento de 4,68 e 9,36 gramas de ganho de peso, evidenciando uma biodisponibilidade de 50% para a betaína (4,68/9,36), tendo a metionina como referência (Tabela 6).

Não houve efeito significativo para o consumo de ração, portanto, tanto a suplementação de metionina como de betaína não afetaram esse parâmetro. Entretanto, quando avaliada a conversão alimentar (consumo/ganho) novamente evidenciou-se que a suplementação de metionina foi melhor significativamente a partir de 5,36 mMol/kg. Todavia, para a betaína, esse efeito apenas foi significativo com uma suplementação de 13,40 mMol/kg.

A análise de regressão para a conversão alimentar houve a constatação de diferenças significativas entre os dois ângulos de inclinação ($P < 0,0210$), sendo que o b para a metionina foi de $-0,0078$ ($P < 0,0044$) e o da betaína de $-0,0140$ ($P < 0,0001$) (Tabela 7). Assim, a biodisponibilidade relativa para betaína, em relação à metionina foi de 55,7% ($0,0078/0,0140$), para esse parâmetro estudado.

Quanto à deposição de gordura abdominal, não foi observado nenhum efeito benéfico pela análise de regressão, tanto para a inclusão da metionina como da betaína (Tabela 7).

Tabela 6. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaina (Bet) em relação ao ganho de peso e ao consumo de ração em machos de frangos de corte, aos 21 dias de idade.

Fonte metil		Ganho de peso ¹		Consumo de ração ¹	
Met (mMol/kg)	Bet	g/ave		g/ave	
0	0	663±28 ^c		946±60	
2,68	0	741±50 ^{ab}		990±45	
0	2,68	707±67 ^{bc}		943±73	
5,36	0	747±58 ^{ab}		989±85	
0	5,36	721±74 ^{bc}		1005±87	
8,04	0	750±35 ^{ab}		961±77	
0	8,04	704±54 ^{bc}		959±35	
10,72*	0	764±57 ^{ab}		1005±46	
0	10,72	733±50 ^{bc}		989±62	
13,40	0	816±32 ^a		1003±31	
0	13,40	747±26 ^{ab}		961±37	
Fonte de variação		df	Pr>F	df	Pr>F
Tratamento		10	0,0034	10	0,7169
R ²			0,48		0,16
C.V. %			6,67		6,27
Parâmetro		Estimativa	Pr> T 	Estimativa	Pr> T
Intercepto		683	0,0001	958	0,0001
Nível (Fonte)	bet	4,68	0,0088	bet	1,48
	met	9,36	0,0001	met	3,50
Nível*Fonte			0,0078		0,3379

1-Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.
* Nível de necessidade preconizado pelo NRC.

Tabela 7. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaína (Bet) em relação à conversão alimentar e à gordura abdominal em machos de frangos de corte, aos 21 dias de idade.

Fonte metil		Conversão alimentar ¹		Gordura abdominal ¹	
Met (mMol/kg)	Bet	Ingestão g / ganho g		(%)	
0	0	1,53±0,07 ^a		1,13±0,16 ^{ab}	
2,68	0	1,43±0,11 ^{abc}		1,18±0,08 ^{ab}	
0	2,68	1,42±0,04 ^{abc}		1,15±0,16 ^{ab}	
5,36	0	1,41±0,03 ^{bcd}		1,07±0,08 ^{ab}	
0	5,36	1,50±0,09 ^{ab}		1,00±0,08 ^{ab}	
8,04	0	1,37±0,06 ^{cd}		1,16±0,21 ^{ab}	
0	8,04	1,46±0,08 ^{abc}		1,12±0,08 ^{ab}	
10,72*	0	1,40±0,11 ^{bcd}		1,15±0,16 ^{ab}	
0	10,72	1,44±0,05 ^{abc}		1,25±0,27 ^a	
13,40	0	1,30±0,02 ^d		0,96±0,16 ^b	
0	13,40	1,37±0,07 ^{cd}		1,20±0,18 ^{ab}	
Fonte de variação		df	Pr>F	df	Pr>F
Tratamento		10	0,0010	10	0,3614
R ²			0,52		0,24
C.V. %			4,96		14,07
Parâmetro		Estimativa	Pr> T 	Estimativa	Pr> T
Intercepto		1,5017	0,0001	1,1291	0,0001
Nível(Fonte)	bet	-0,0078	0,0044	bet	0,0037
	met	-0,0140	0,0001	met	-0,0049
Nível*Fonte			0,0210		0,1384

1-Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

* Nível de necessidade preconizado pelo NRC.

4.3. EXPERIMENTO III

A suplementação em metionina e betaína evidenciou um efeito significativo ($P < 0,05$) quanto ao ganho de peso (Tabela 8).

A regressão com melhor ajuste foi a linear ($P < 0,0001$), suportada por um coeficiente de determinação de 0,72 (R^2). Pôde ser observado que termos adicionais não foram necessários para validar o modelo obtido para a regressão ($P < 0,1876$).

Não foi constatada diferença significativa para a interação (BET x MET), indicando que as curvas apresentaram similares inclinações para o ganho de peso. Entretanto, quanto à eficiência de suplementação, apesar de ambas as fontes se mostrarem significativas [metionina ($P < 0,0001$); betaína (0,0082)], a betaína apresentou uma menor eficiência.

Foi constatado, em comparação ao grupo testemunha, que o ganho de peso mostrou-se influenciado significativamente pela suplementação em metionina e betaína; não tendo sido detectado interação significativa para esse parâmetro, mostrando a ação independente de ambas as fontes do grupo metil. Contudo pela análise da curva de regressão (inclinação de curva), foi constatada a superioridade da metionina, quanto à biodisponibilidade, apresentando a betaína o valor de 54,4% (8,96/16,47). Foi significativo ainda o efeito quadrático para a metionina, mostrando que foi atingido o nível adequado em metionina para esse parâmetro.

Outras pesquisas também têm confirmado que a betaína e a metionina servem como fontes alternativas de grupos metílicos (Pesti et al., 1980; Lowry et al., 1987; Pesti, 1989).

O consumo de ração foi significativamente maior ($P < 0,05$) para a suplementação com metionina (Tabela 9), quando comparado ao grupo controle, sendo que a suplementação em betaína não afetou significativamente esse parâmetro. Kermenshari (2001) também constatou que os níveis de betaína da dieta não afetaram o consumo de ração. Assim, apenas a inclinação da curva (b) para a metionina foi significativa ($P < 0,0148$), mostrando que a cada unidade em mMol em suplementação em metionina há um acréscimo estimado de 10,93 gramas do consumo total de ração.

Foi constatada interação significativa para a conversão alimentar ($P < 0,0465$), mostrando a dependência entre os fatores estudados (Tabela 10). Assim, para responder qual o melhor nível de suplementação em metionina, a resposta seria: “depende do nível de betaína” e vice-versa. Entretanto, quando ambos os níveis de suplementação de betaína e metionina foram nulos (zero) evidenciou-se o pior resultado para a conversão alimentar. Rostagno & Pack (1996) relataram que a conversão alimentar foi significativamente melhorada com a adição de metionina, mas não com betaína, o que em parte está de acordo com o presente experimento.

A biodisponibilidade da betaína, em relação à conversão alimentar, foi de 82,2% (0,0162/0,0197), tendo a metionina como fonte padrão (Tabela 10).

A gordura abdominal pela avaliação das curvas de regressão, não foi influenciada tanto pela suplementação de metionina como de betaína (Tabela 11). Contudo, para a suplementação em metionina, foi constatado efeitos significativos, quando comparados com os do grupo testemunha.

Tem sido relatado que aves com níveis adicionais de metionina tendem a apresentar menor deposição de gordura abdominal (Schutt & Pack, 1995; Huyghebaert & Pack, 1996), estando em concordância com o presente experimento; entretanto uma adicional suplementação em betaína não favoreceu esse parâmetro, discordando assim dos relatos de Virtanen & Rosi (1995) e Saunderson & MacKinlay (1990).

Os níveis de suplementação do experimento III foram feitos para enquadrar os dados numa análise de superfície, visando permitir níveis crescentes de grupos metálicos, segundo o esquema de Box & Winson (1951) adotado por Pesti (1982) para experimentos com aves. Assim, através da metodologia da superfície de resposta, objetivou-se otimizar a variável resposta, ou seja, encontrar os níveis de grupos metálicos (fontes) ou a combinação desses que maximizassem ou minimizassem os parâmetros de desempenho estudados (ganho de peso, consumo de ração, conversão alimentar e gordura abdominal).

A superfície de resposta foi apresentada por representação gráfica, também denominada de Gráfico de contornos (Figuras 3, 4, 5 e 6), e por uma superfície de resposta tridimensional (Figuras 7, 8, 9 e 10).

Pelo gráfico de contornos, cada faixa corresponde a uma particular altura da superfície de resposta, sendo que em cada linha a resposta é constante.

Examinado o gráfico de contornos e a resposta tridimensional do ganho de peso (Figuras 3 e 7), respectivamente, ou de qualquer outro parâmetro analisado (Figuras 4, 5 e 6), e suas correspondentes superfícies tridimensionais (Figuras 8, 9 e 10) respectivamente para o consumo de ração, conversão alimentar, e gordura abdominal, observa-se que tanto o ganho como os demais parâmetros foram mais sensíveis a mudanças no nível de metionina do que a mudanças no nível de betaína, estando de acordo com os resultados de Schutte et al. (1995) e Rostagno & Pack (1996).

Na seqüência da análise foi determinada a região de ótimo, isto é, determinada a melhor região do estudo (ponto ótimo), ou seja, ponto de máximo ou de mínima. Por exemplo, ao avaliar-se o ganho de peso, busca-se o máximo incremento na resposta, tendo assim o método da máxima inclinação ascendente; todavia ao avaliar-se a conversão alimentar ou mesmo a deposição de gordura abdominal, o ponto de mínimo é o que se busca, nesse caso a máxima inclinação descendente.

No diagnóstico do modelo da equação primeiramente obteve-se uma estimativa do erro e posteriormente avaliou-se as interações que deveriam

ser incluídas na equação, assim como os termos quadráticos. Tendo em mente esse diagnóstico de modelo, pôde ser observado que tanto os efeitos da interação como os efeitos da curvatura não foram significativos, em relação ao ganho de peso, a ingestão de ração e a gordura abdominal (Tabelas 8, 10 e 11), ao passo que o efeito linear foi significativo (ganho de peso [$P > 0,0001$]; consumo de ração [$P > 0,0005$] e gordura abdominal [$P > 0,0383$]), justificando um modelo de 1ª ordem, a saber:

$$\text{Consumo de ração} = 908,50 + 10,93 \text{ MET} + 7,60 \text{ BET}$$

$$\text{Ganho de peso} = 628,63 + 16,47 \text{ MET} + 8,96 \text{ BET}$$

$$\text{Gordura abdominal} = 1,2567 - 0,0273 \text{ MET} - 0,008 \text{ BET}$$

Para a conversão alimentar o efeito da regressão do segundo grau (curvatura) não foi significativo (Tabela 9) porém, o efeito da interação apesar de muito próximo do limite foi significativa ($P > 0,0465$), ficando assim a equação da regressão:

$$\text{Conversão alimentar} = 1,4847 - 0,0197 \text{ MET} - 0,0162 \text{ BET} + 0,0007 \text{ MET BET}$$

A próxima etapa foi a localização do ponto estacionário (ponto que otimiza a resposta estimada) para os parâmetros estudados (ganho de peso; conversão alimentar; consumo de ração; gordura abdominal) e que poderiam ser representados por um máximo, mínimo ou ponto de sela.

A forma mais direta de se obter isso seria através do gráfico de contorno do modelo de regressão, ajustado aos dados dos parâmetros (Figuras 3, 4, 5 e 6). Entretanto, uma análise canônica também foi realizada (rotação dos eixos do sistema até que eles fiquem paralelos aos eixos principais da superfície de resposta ajustada), por facilitar a interpretação

dos resultados. Portanto, com o objetivo de caracterizar a superfície de resposta, na qual todos os valores da magnitude (λ_i) são positivos, então há um ponto de resposta mínima; se os valores da magnitude são todos negativos, se caracteriza um ponto de máxima e por fim se os valores da magnitude têm sinais positivos e negativos, então o ponto estacionário (X_s) é um ponto de sela.

A forma canônica do modelo ajustado ficou:

Ganho de peso = 784,43 – 6,79 MET – 25,67 BET (Ponto de máximo)

Consumo de ração = 1002,50 – 11,02 MET – 21,20 BET (Ponto de máximo)

Conversão alimentar = 1,29 + 0,0374 MET + 0,0061 BET (Ponto de mínimo)

Gordura abdominal = 1,05 + 0,082 MET + 0,029 BET (Ponto de mínimo)

Assim, pela análise canônica da superfície de resposta obteve-se como ponto estacionário das fontes (ponto que otimiza a resposta estimada) para o ganho de peso (MET = 13,09 mMol e BET = 10,71 mMol) e o valor no ponto estacionário de 784,43 gramas (Anexo A).

Para a conversão alimentar (MET = 10,90 mMol e BET = 10,83 mMol) o valor no ponto estacionário foi 1,29 (Anexo B).

O ponto estacionário para o consumo de ração (MET = 12,02 mMol e BET = 7,46 mMol) o valor no ponto estacionário foi 1002,50 gramas (Anexo C).

Finalmente o ponto estacionário para a gordura abdominal (MET = 11,90 mMol e BET = 10,75 mMol) o valor no ponto estacionário foi 1,051% (Anexo D).

Uma aplicação prática para esses pontos estacionários (ponto que otimiza a resposta estimada) seria determinar o nível ideal de suplementação acima do qual não haveria mais benefícios para o parâmetro em estudo, além do prejuízo econômico decorrente do excesso de suplementação. Assim, verificou-se para a metionina que todos os pontos que otimizaram os parâmetros estudados estavam acima das recomendações do NRC (1994) (10,72 mMol/kg). Dessa forma as recomendações do NRC (1994) podem estar subestimadas em relação aos níveis de exigência da metionina.

Quanto às necessidades em grupos metílicos, aparentemente as recomendações do NRC(1994) foram adequadas para atender um eficiente desempenho das aves, uma vez que para os níveis de betaína indicados como ótimo (ponto estacionário) estavam muito próximos ou mesmo abaixo daquele recomendado pelo NRC (1994) (Met + cist = 0,90% \Rightarrow 10,72 mMol/kg dieta).

Como consequência de aplicação desses resultados temos que ambos efeitos (lineares e quadráticos) devem ser considerados nas dietas formuladas com betaína e metionina. Assim, a natureza curvilínea da resposta (uma consequência do componente quadrático) observada nas Figuras 7, 8, 9 e 10, indica que as respostas se comportam segundo a “ lei da diminuição de resposta”, e assim as respostas no desempenho diminuem

conforme o aumento de suplementação proporcionalmente idênticas (Hendricks et al., 1931).

As respostas de ajustes desses modelos se conformam com a “lei da diminuição de incremento ou resposta”, pela qual sucessivos aumentos de nutrientes essenciais, quando adicionados à dieta, evidenciam que a resposta estudada é cada vez menor, a cada idêntica proporção de suplementação (Hendricks et al., 1931).

Desde 1931 (Hendricks et al., 1931) modelos experimentais já eram propostos para demonstrar que as respostas de crescimento não são lineares ao aumento da concentração do nutriente. Atualmente tem crescido o interesse por modelos curvilíneos ou modelos matemáticos não-lineares (modelagem) para avaliação das exigências de nutrientes, visando a otimização de dietas para frangos de corte (Rosa et al., 2001; Sakomura et al., 2002), assim a análise canônica mostrou-se apropriada para a avaliação das exigências em metionina e betaína no presente experimento.

Tabela 8. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaína (Bet) em relação ao ganho de peso em machos de frangos de corte, aos 21 dias de idade.

Ganho de peso (g/ave)				
Fonte metil	Bet (mMol/kg)			
Met (mMol/kg)	0	6,7	13,4	Média
0	621±16	702±19	694±28	672 ^b
8,04	724±24	737±23	792±23	751 ^a
10,72	761±39	784±21	779±02	775 ^a
13,40	760±45	774±26	782±54	772 ^a
Média	716 ^b	749 ^a	762 ^a	
Regressão	df	Pr>F	R ²	
Linear	2	0,0000	0,6586	
Quadrática	2	0,0832	0,0353	
Interação	1	0,0579	0,0254	
Regressão total	5	0,0000	0,7193	
Resíduo	df	Pr>F		
Falta de ajuste	6	0,1876		
Erro puro	36			
Erro total	42			
Parâmetro		Estimativa	Pr> T	
Intercepto	1	628,63	0,0000	
Met	1	16,47	0,0000	
Bet	1	8,96	0,0082	
Met*Met	1	-0,50	0,0478	
Bet*Met	1	-0,32	0,0579	
Bet*Bet	1	-0,22	0,2952	

1-Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

* Nível de necessidade preconizado pelo NRC.

Tabela 9. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaína (Bet) em relação ao consumo de ração em machos de frangos de corte, aos 21 dias de idade.

Fonte metil	Consumo de ração (g/ave)			Média
	Bet (mMol/kg)			
Met (mMol/kg)	0	6,7	13,4	
0	905±59	951±41	947±31	934 ^b
8,04	970±58	996±40	999±20	988 ^a
10,72	990±26	994±13	979±17	988 ^a
13,40	982±48	1002±36	996±67	993 ^a
Média	962	986	980	
Regressão	df	Pr>F	R²	
Linear	2	0,0005	0,2827	
Quadrática	2	0,2244	0,0480	
Interação	1	0,2913	0,0177	
Regressão total	5	0,023	0,3485	
Resíduo				
Falta de ajuste	6	0,9730		
Erro puro	36			
Erro total	42			
Parâmetro		Estimativa	Pr> T 	
Intercepto	1	908,50	0,0000	
Met	1	10,93	0,0148	
Bet	1	7,60	0,0695	
Met*Met	1	-0,39	0,2192	
Bet*Met	1	-0,22	0,2913	
Bet*Bet	1	-0,33	0,2213	

1-Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

* Nível de necessidade preconizado pelo NRC.

Tabela 10. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaína (Bet) em relação à conversão alimentar em machos de frangos de corte, aos 21 dias de idade.

Conversão alimentar (g ingestão/ g ganho)				
Fonte metil Met (mMol/kg)	Bet (mMol/kg)			Média
	0	6,7	13,4	
0	1,50±0,11 ^a	1,35±0,03 ^{bcd}	1,36±0,04 ^{bc}	1,41
8,04	1,37±0,02 ^{bc}	1,37±0,09 ^b	1,26±0,03 ^d	1,33
10,72	1,32±0,03 ^{bcd}	1,27±0,02 ^{cd}	1,28±0,04 ^{bcd}	1,29
13,40	1,33±0,05 ^{bcd}	1,30±0,07 ^{bcd}	1,32±0,09 ^{bcd}	1,31
Média	1,38	1,32	1,31	
Regressão	df	Pr>F	R²	
Linear	2	0,0000	0,3786	
Quadrática	2	0,3472	0,0279	
Interação	1	0,0465	0,0540	
Regressão total	5	0,0001	0,4605	
Resíduo				
Falta de ajuste	6	0,1554		
Erro puro	36			
Erro total	42			
Parâmetro		Estimativa	Pr> T 	
Intercepto	1	1,4847	0,0000	
Met	1	-0,0197	0,0069	
Bet	1	-0,0162	0,0178	
Met*Met	1	0,0006	0,2637	
Bet*Met	1	0,0007	0,0465	
Bet*Bet	1	0,0004	0,3518	

1-Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

* Nível de necessidade preconizado pelo NRC.

Tabela 11. Influência da suplementação de Metionina (Met) e Betaína (Bet) em relação à gordura abdominal em machos de frangos de corte, aos 21 dias de idade.

Gordura abdominal (%)¹				
(%)	Bet (mMol/kg)			
Fonte metil	0	6,7	13,4	Média
Met (mMol/kg)				
0	1,25±0,25	1,30±0,20	1,27±0,10	1,27^a
8,04	1,04±0,25	0,98±0,29	1,20±0,06	1,07^b
10,72	1,31±0,10	1,11±0,19	0,98±0,07	1,13^{ab}
13,40	1,11±0,16	1,07±0,13	1,07±0,18	1,08^b
Média	1,18	1,11	1,13	
Regressão	df	Pr>F	R²	
Linear	2	0,0383	0,1367	
Quadrática	2	0,4487	0,0316	
Interação	1	0,3382	0,0182	
Regressão total	5	0,1103	0,1865	
Resíduo				
Falta de ajuste	6	0,1965		
Erro puro	36			
Erro total	42			
Parâmetro		Estimativa	Pr> T 	
Intercepto	1	1,2567	0,0000	
Met	1	-0,0273	0,1909	
Bet	1	-0,0080	0,6847	
Met*Met	1	0,0016	0,2923	
Bet*Met	1	-0,0010	0,3382	
Bet*Bet	1	0,0009	0,4851	

1-Valores seguidos da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade.

* Nível de necessidade preconizado pelo NRC.

Contour plot of MET*BET.

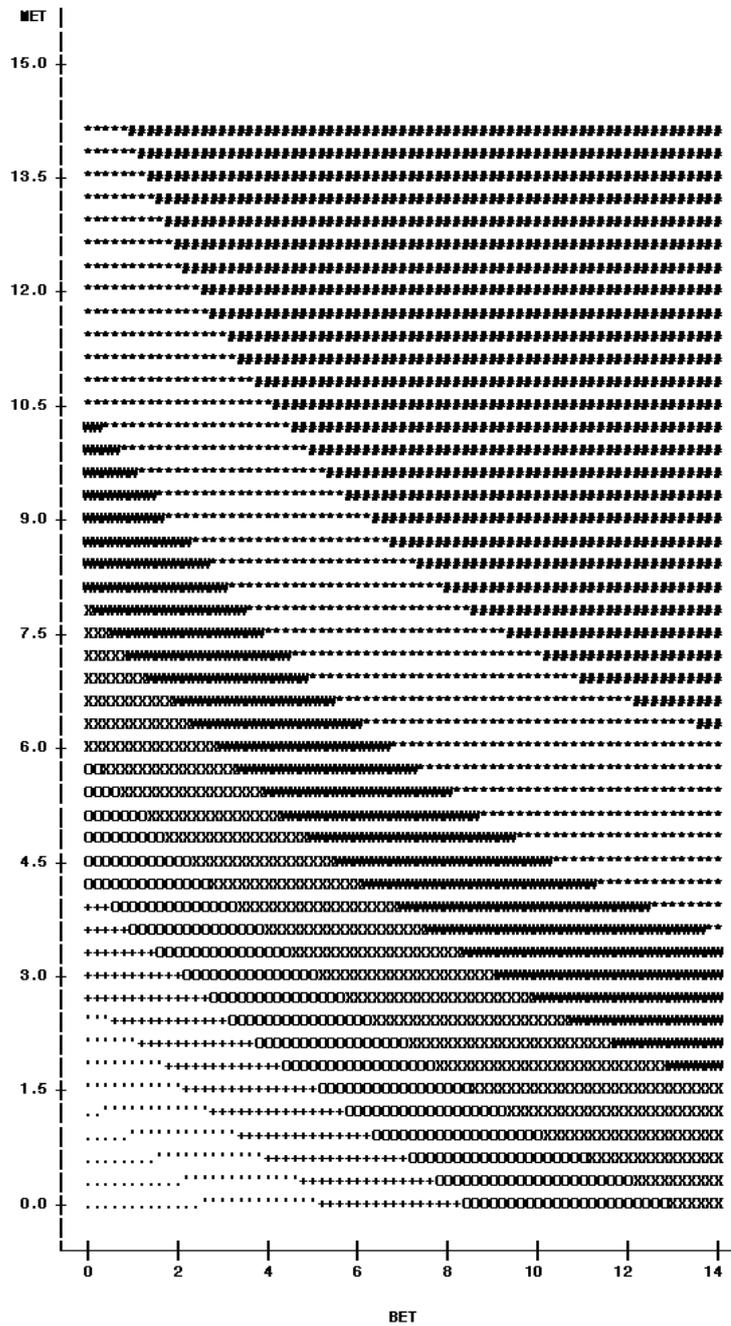


Figura 3. Gráfico de contornos para o ganho de peso (g) de frangos com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).

Contour plot of MET*BET.

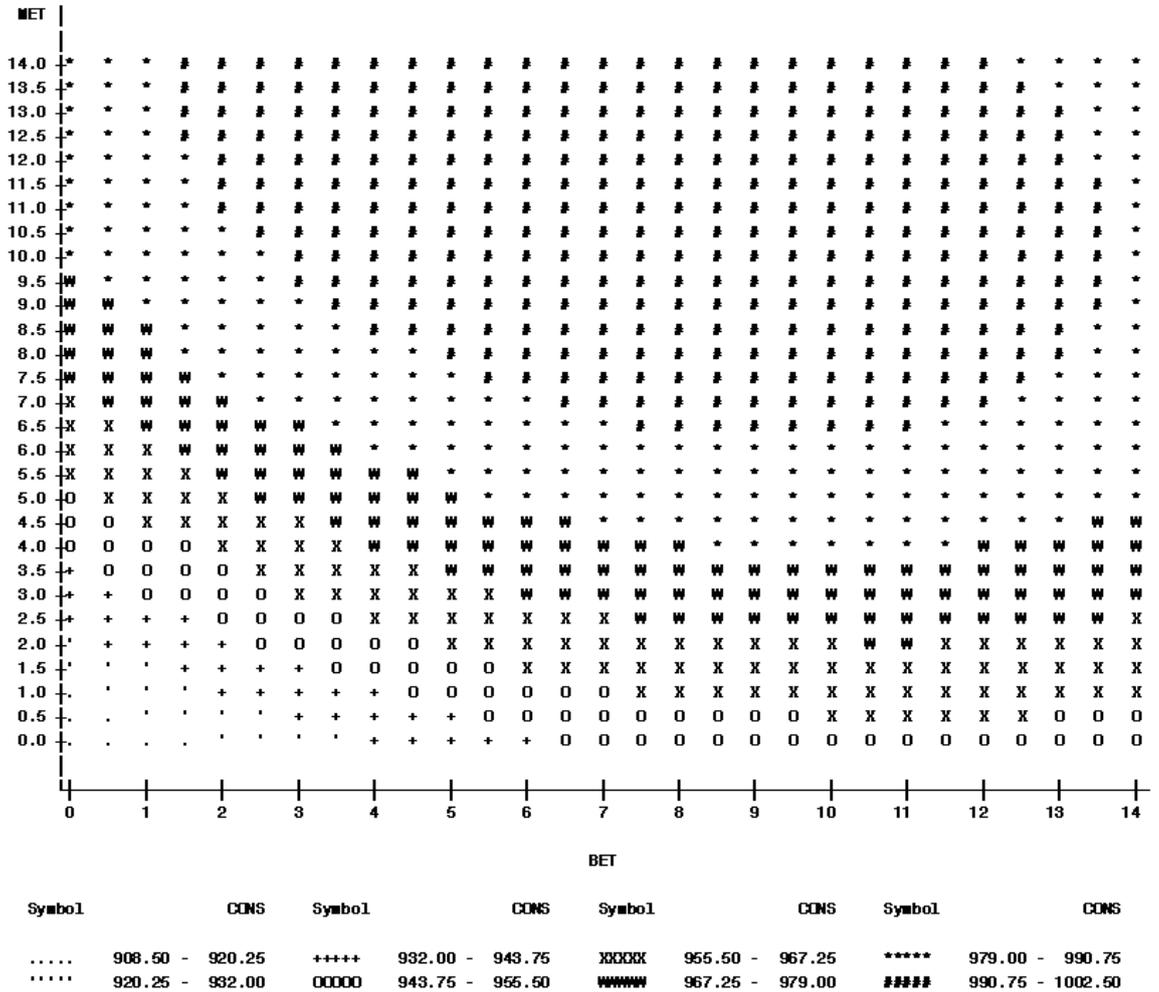


Figura 4. Gráfico de contornos para o consumo de ração (g) de frangos com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).

Contour plot of MET*BET.

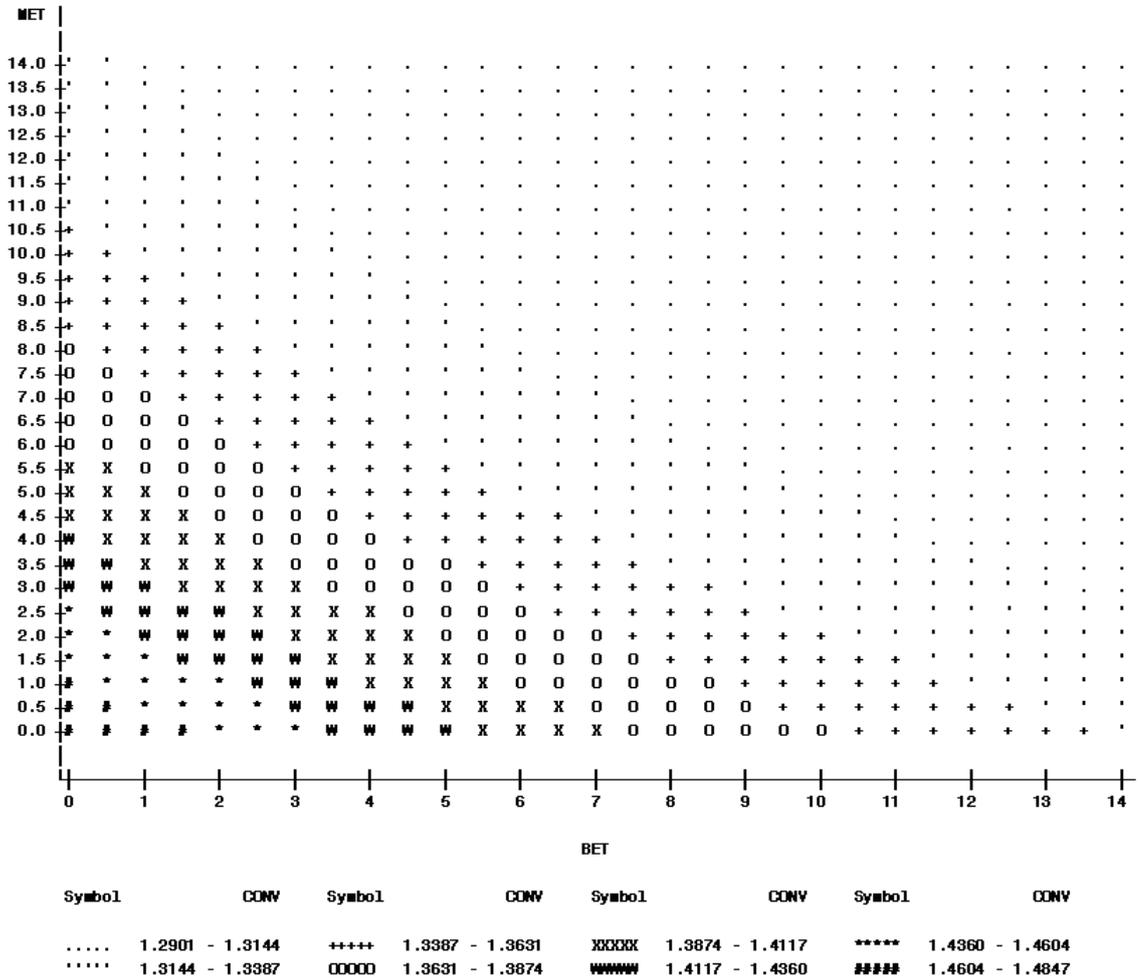


Figura 5. Gráfico de contornos para a conversão alimentar de frangos com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).

Contour plot of MET*BET.

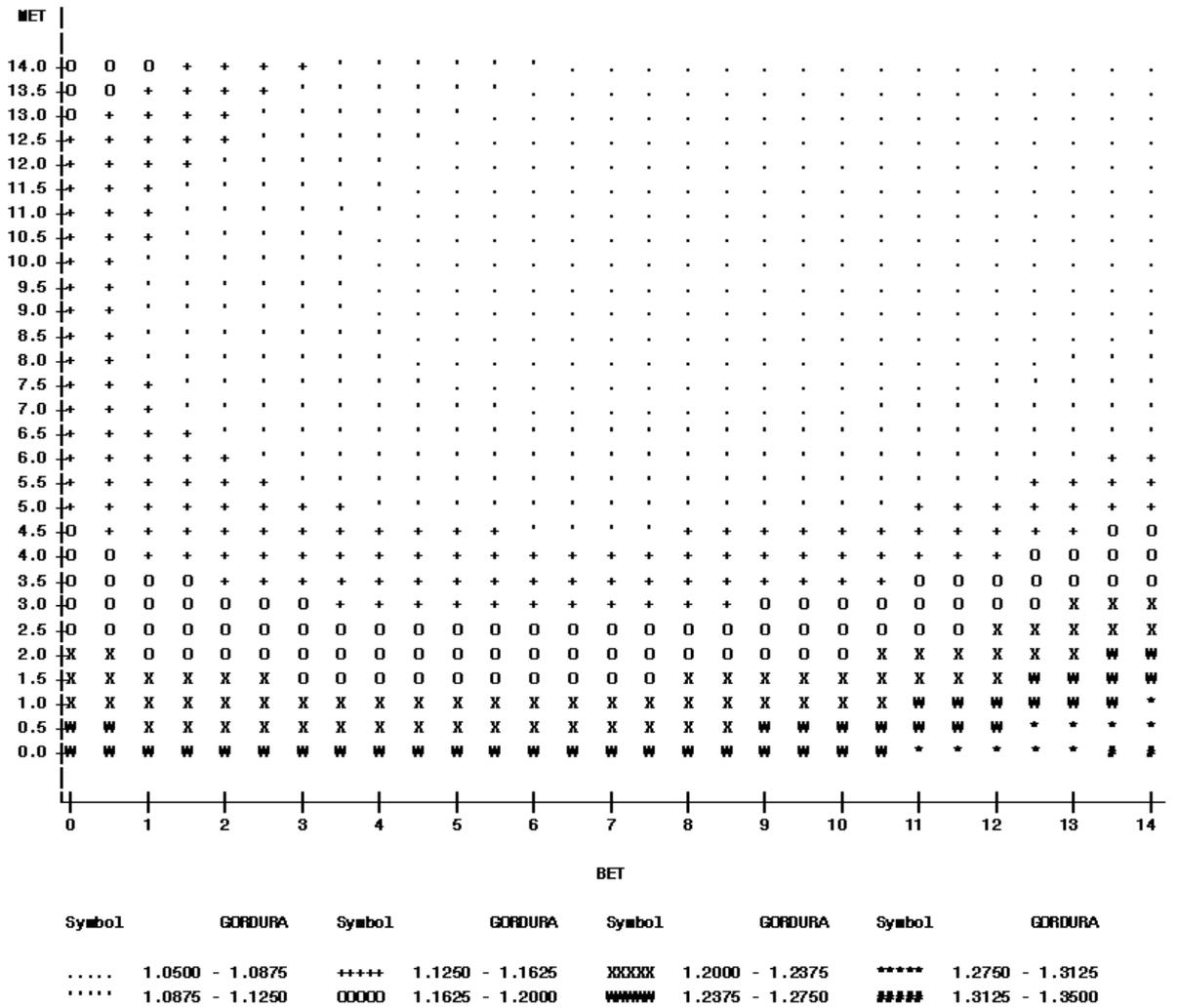


Figura 6. Gráfico de contornos para gordura abdominal (%) de frangos com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).

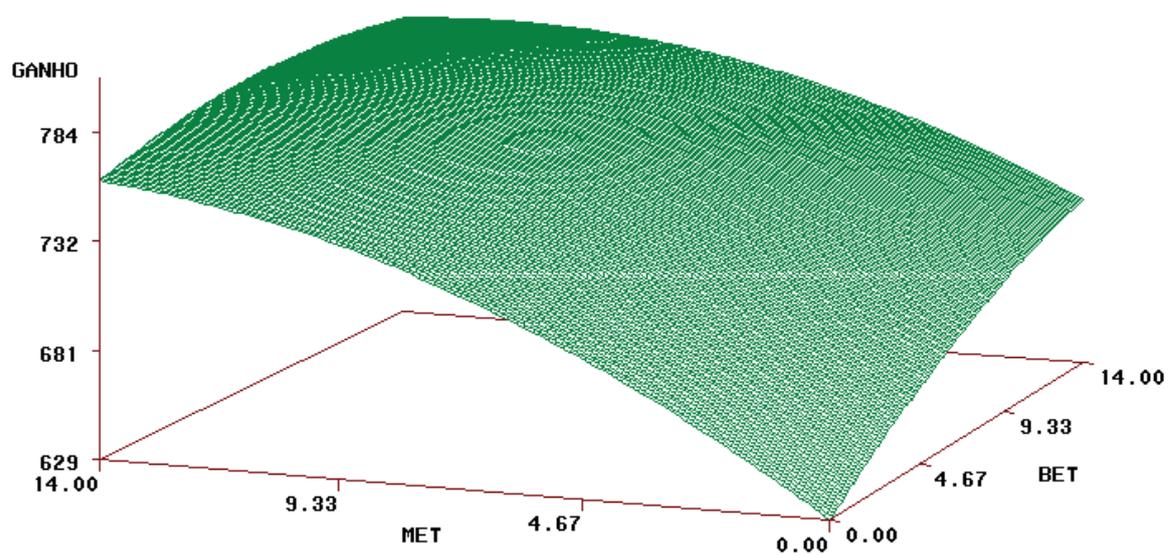


Figura 7. Superfície de resposta tridimensional para o ganho de peso (g) de frangos de corte com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).

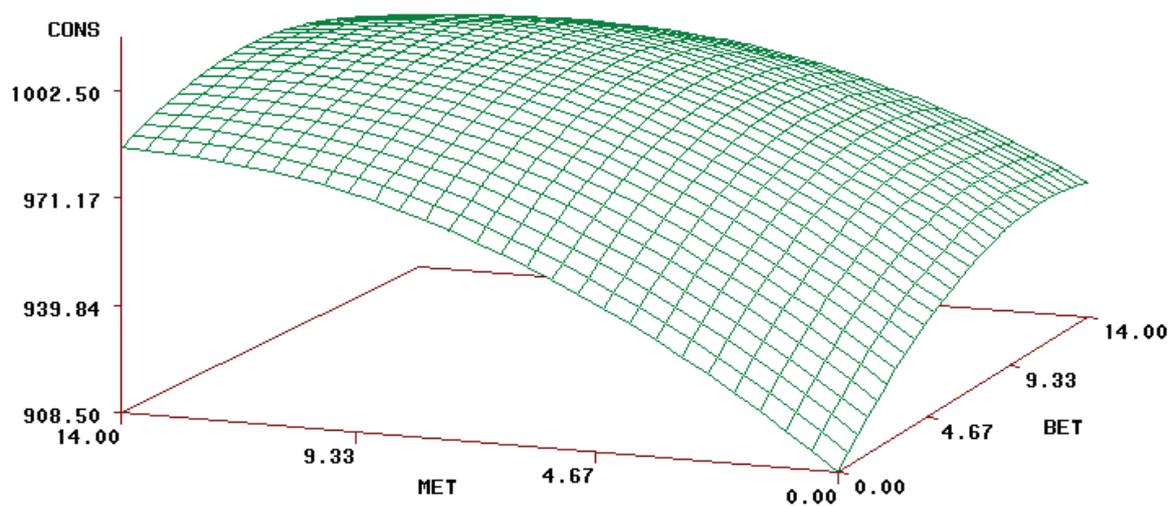


Figura 8. Superfície de resposta tridimensional para o consumo de ração (g) de frangos de corte com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaina (Bet).

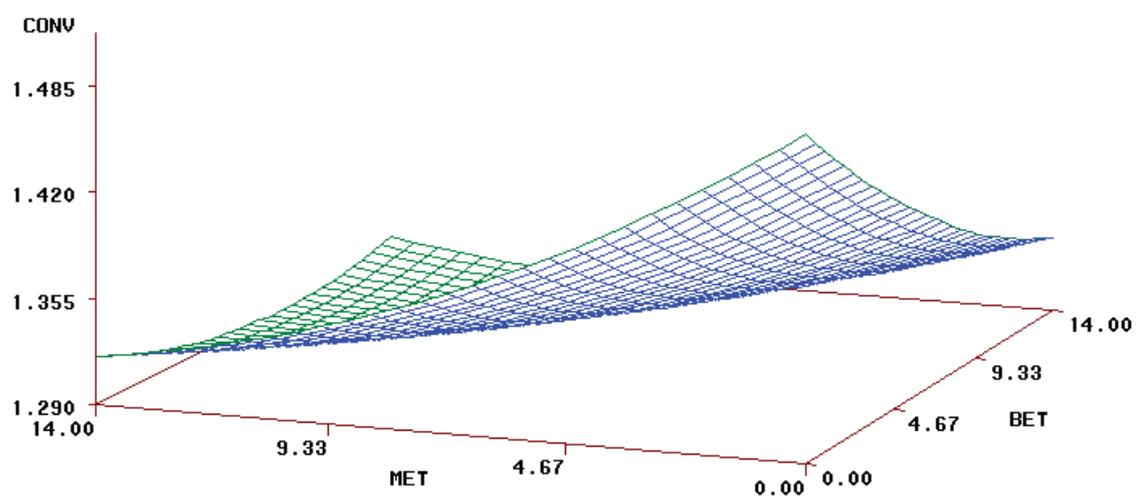


Figura 9. Superfície de resposta tridimensional para a conversão alimentar de frangos de corte com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).

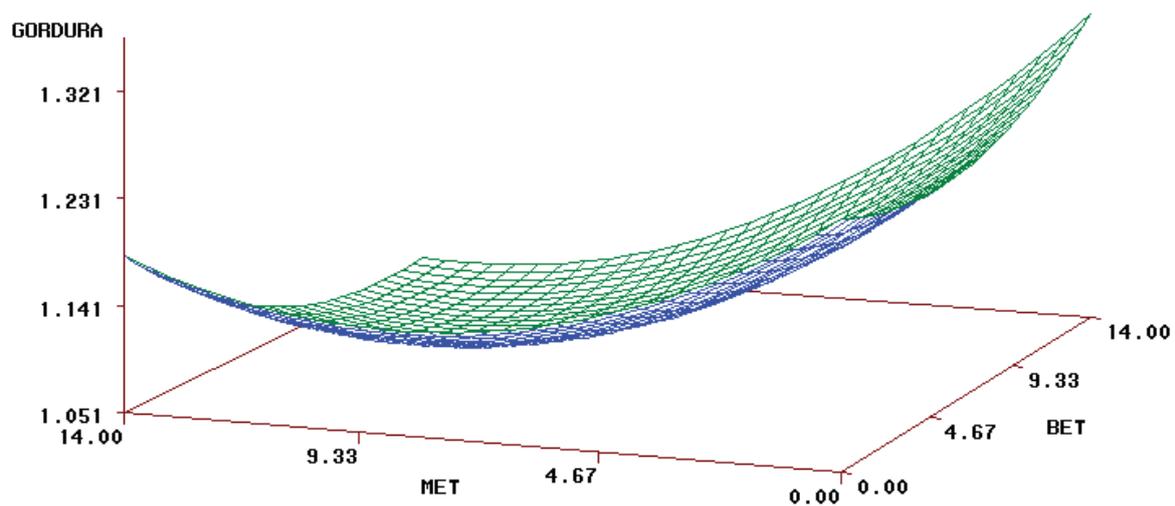


Figura 10. Superfície de resposta tridimensional para a gordura abdominal (%) de frangos de corte com 21 dias de idade, suplementados com Metionina (Met) e Betaína (Bet).

4.4. Considerações Gerais

A deficiência em metionina e conseqüentemente em aminoácidos sulfurados e não em grupos metílicos ficou evidenciada claramente na ração controle dos três experimentos. Entretanto, somente a partir do atendimento das necessidades em aminoácidos sulfurados, foi que a suplementação em grupos metílicos mostrou-se efetiva, com a ressalva da melhor disponibilidade biológica favorável à metionina.

A ração controle foi formulada com aproximadamente 70% e 80% do nível recomendado pelo NRC (1994) em metionina e metionina+cistina, respectivamente.

Para os efeitos das suplementações em base molar em betaína e/ou metionina a avaliação foi sempre desfavorável à betaína, em todos os experimentos. Entretanto, quando avaliada pela biodisponibilidade, a suplementação em betaína mostrou-se significativa somente com valores acima do recomendado pelo NRC (1994) (Exp II), tanto para o ganho de peso como para a conversão alimentar. Assim, os efeitos da adição de betaína na dieta basal ou nas dietas suplementadas com metionina foram pequenos e não significativos.

Não há uma uniformidade ou unanimidade nas publicações encontradas na literatura quanto à eficiência da betaína, colina e metionina, quanto à metilação (Lowery et al., 1987; Molitoris & Baker, 1976c). É reportado que a betaína metila a homocisteína para metionina aproximadamente com três vezes mais eficiência do que a colina (Stekol et

al., 1953). Contrariamente, outros experimentos mostraram que a betaína, a colina e a metionina demonstraram ser equivalentes como fontes de grupo metil (Pesti et al., 1980). Pesti et al. (1981) acompanharam a curva de crescimento de frangos de corte, concluindo que a reposição de metionina, via metilação da homocisteína para metionina, é aumentada pela adição de colina ou betaína. Esses resultados foram também confirmados na avaliação do efeito da suplementação de betaína e colina em ratos (Firlstein et al., 1983).

Apesar desses relatos anteriores, não há nenhuma indicação pelo presente estudo, de que a betaína tem o potencial de poupar a metionina, em base molar, tendo sim demonstrado ser menos eficiente do que a metionina. Os resultados desse experimento são concordantes com Sanderson & Mckinley (1990) e Kermanshahi (2001), os quais também demonstraram que dietas com reposição da metionina pela betaína apresentaram um desempenho desfavorável, o que também foi relatado em outros estudos (Pesti et al., 1979; Pesti et al., 1981).

Nenhum efeito para a betaína, quanto à gordura abdominal, foi observado. Assim, os resultados desse estudo são discordantes dos obtidos por Virtanener & Rosi (1995), nos quais a substituição da metionina pela betaína evidenciou um decréscimo na deposição da gordura abdominal.

Entretanto, ficou bem evidente que a suplementação da dieta basal com metionina favoreceu significativamente uma menor deposição de gordura abdominal (Tabela 11).

Os resultados de desempenho do presente estudo sugeriram que a betaína não pôde substituir a metionina em dietas deficientes desse aminoácido essencial. Isto está de acordo com os estudos de Rostagno & Pack (1996) e Schutte et al. (1997), nos quais foram constatados que a betaína respondeu muito pouco e não significativamente quando comparada à metionina.

Interação positiva entre betaína e ionóforos pode ocorrer, devido ao prejuízo que alguns coccidiostáticos causam na conversão da colina em betaína (Tyler, 1977; Waldenstedt et al., 1999). No presente estudo e também nos relatados por Schutte et al. (1997) e Kettunen et al. (2001c), nenhum coccidiostático ionóforo foi utilizado. Assim, é possível que as diferenças entre resultados, no qual a betaína tem sido motivo de tantas controvérsias, se deva ao fato de muitos desses experimentos apresentarem ionóforos em suas dietas, comprometendo a conversão de colina em betaína, além do desafio da presença de coccídea (Matthews et al, 1995; Tiihonen et al., 1997; Waldenstedd et al, 1999; Kettunen et al., 2001a).

Além disso, no presente experimento e também nos relatados de Rostagno & Pack (1996) e Schutte et al. (1997) a suplementação em colina estava acima da necessidade, uma vez que foi garantido que ela não foi limitante na dieta, ou seja, foi adicionada com certa margem de segurança.

Entretanto, no experimento realizado por Virtanen & Rumsey (1996) o nível total de colina e a quantidade suplementada não foram informados e sim que as dietas atenderam as recomendações do NRC (1994). Concomitantemente, nos casos em que a conversão de colina para betaína

esteja prejudicada pela presença de ionóforos, as aves poderiam responder a betaína em dietas deficientes em metionina, e nessas condições a betaína poderia compensar, em parte, a metionina da dieta.

Portanto, em relação ao presente experimento, pode-se afirmar que a suplementação em betaína melhorou o desempenho das aves em relação ao ganho de peso e a conversão alimentar, mas somente a suplementação em metionina permitiu o máximo desempenho.

5. CONCLUSÕES

A biodisponibilidade relativa média da betaína foi de 52% e 69%, respectivamente para o ganho de peso e para a conversão alimentar.

A redução da metionina para frangos de corte pela substituição por betaína (mMol), não permite flexibilizar a formulação e reduzir as margens de segurança, sem comprometimento do desempenho das aves.

As respostas para a metionina e betaína foram curvilíneas, assim obedecem à “lei da diminuição de incremento”.

O máximo desempenho das aves só foi possível com a suplementação em metionina.

O efeito lipotrópico não foi verificado, tanto para a betaína como para a metionina, em aves com 21 dias de idade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- ALBINO, L.F.T.; SILVA, S.H.M.; VARGAS, J.R.; ROSTAGNO H.S.; SILVA M.A. Níveis de metionina + cistina para frangos de corte de 1 a 21 e 22 a 42 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.28, p.519-525, 1999.
- ALLEN, P.C. The effect of coccidiosis and feed withdrawal on intestinal function in broiler. Proceedings of the 1984 Maryland Nutrition Conference for Feed Manufactures, p.29-33, 1984.
- ALLEN, P.C.; DANFORTH, H.D.; AUGUSTINE, P.C. Dietary modulation of avian coccidiosis. **Int. J. Parasitol.**, v.28, p.1131-1140, 1998.
- ANDERSON, P.A.; BAKER, D.H.; SHERRY, P.A.; CORBIN, J.E. Choline-methionine interrelationship in feline nutrition. **J. Anim. Sci.**, v.49, p.522-527, 1979.
- AUGUSTINE, P.C.; MCNAUGHTON, J.L.; VIRTANEN, E.; ROSI, L. Effect of betaine on the growth performance of chicks inoculated with mixed cultures of avian Eimeria species and on invasion and development of Eimeria tenella and Eimeria acervulina in vitro and in vivo. **Poultry Sci.**, v.76, p.802-809, 1997.
- BABUCKE, G.; SARRE, B. Clinical experience with betain citrate. **Med. Klin.** v.68, p.1109-1113, 1973.
- BAILEY, L. B.; GREGORY, J. F. Folate metabolism and requirements. **J. Nutr.**, v.129, p.779-82, 1999a.
- BAILEY, L.B.; GREGORY, J.F. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and other enzymes: metabolic significance, risks and impact on folate requirement. **J. Nutr.**, v.129, p.919-922, 1999b.
- BAKER, D.H. Amino acid interations with vitamins, minerals, and drugs. In: Handbook, 1984 Nutrition Institute on Amino Acids, National Feed Ingredients Association, West Des Moines, IA, USA. p.1-9, 1984.
- BAKER, D.H.; CZARNECKI, G.L. Transmethylation of homocysteine to methionine: efficiency in the rat and chick. **J. Nutr.**, v.115, p.1291-1299, 1985.
- BAKER, D.H.; HALPIN, K.M.; CZARNECKI, G.L.; PARSONS, C.M. The choline-methionine for growth of the chick. **Poul. Sci.**, v.62, p.133-137, 1982.
- BAKER, D.H.; SUGAHARA, M. Nutritional investigation of the metabolism of glycine and its precursors by chicks fed a crystalline amino acid diet. **Poult. Sci.** v.49, p.756, 1970.
- BARAK A.J.; BECKENHAUER, H.C.; MATTI, J.; TUMA, D.J. Dietary betaine promotes generation of hepatic S-adenosylmethioine and protects the liver from ethanol-induced fatty infiltration. **Alcohol Clin. Exp. Res.**, v.17, p.552-555, 1993.

(*) De acordo com as normas técnicas da NBR 6023 da ABNT de 29 de setembro de 2002.

- BARAK, A.J.; BECKENHAUER, H.C.; BADAQSH, S.; TUMA, D.J. The effect of betaine in reversing alcoholic steatosis. **Alcohol Clin Exp Res.**, v.21, p.1100-1102, 1997.
- BARAK, A.J.; BECKENHAUER, H.C.; TUMA, D.J. Betaine, ethanol, and the liver: a review. **Alcohol**, v.13, p. 395-398, 1996.
- BARAK, A.J.; TUMA, D.J. Betaine, metabolic by-product or vital methylating agent? **Life Sci.**, v.32, p.771-774, 1983.
- BARBOZA, R.J.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; GOMES, P.C.; HANNAS, M.I.; RUNHO, R.C. 1998. Exigência de metionina + cistina para frangos de corte na fase de crescimento. In: Anais da 35ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Botucatu, SP. Brasil. p.469-471, 1998.
- BOX, G.E.P.; WILSON, K.B. On the experimental attainment of optimum conditions (with discussion). **Journal of the Royal Statistical Society**, v.34, p.1301-1307, 1951.
- BUDAVARI, S. 1996. The Merck Index, 12 Edition, Merck and Co. Inc., Rayway, NJ. USA. p.1225, 1996.
- BURG, M.B. Molecular basis for osmoregulation of organic osmolytes in renal medullary cells. **J. Experim. Zool.** v.268, p.171-175, 1994.
- CACHIN, M.; PERGOLA, F. Betaine aspartate in the hepato-digestive domain. **Sem Ther.**, v. 42, p.423-424, 1966.
- CAIRELLA, M.; VOLPARI, B. Betaine aspartate in the therapy of liver diseases. **Clin Ter.**, v.60, p.513-534, 1972.
- CAMPBELL, R.G.; CADOGAN, D.J.; MORLEY, W.C.; USITALO, R.; VIRTANEN, E. Interrelationships between dietary methionina and betaine on the growth performance of pigs from 65 to 100 kg. **J. Anim. Sci.**, v.79, (Suppl. 1), p.82 (Abstr.), 1995.
- CAMPOS, E.J. Alternativas na alimentação de frangos de corte face ao desenvolvimento genético e métodos de criação. 1982. In: **I Seminário Técnico sobre manejo, nutrição e doenças das aves**. Belo horizonte. **Anais...**, MG, 1982. p.37-52.
- CHADWICK, L.H.; McCANDLESS, S.E; SILVERMAN, G.L; SCHWARTZ, S.; WESTAWAY, D.; NADEAU, J.H. Betaine-homocysteine methyltransferase-2: cDNA cloning, gene sequence, physical mapping, and expression of the human and mouse genes. **Genomics**, v.70, p.66-73, 2000.
- CHAMBERS, S.T. Betaines: their significance for bacteria and renal tract. **Clinical Sci.** v.88, p.25-27, 1995.
- CHENDRIMADA, T.P.; GARCIA-NETO, M.; PESTI, G.M.; DAVIS, A.J; BAKALLI, R.I. Determination of the betaine content of feed ingredients using high-performance liquid chromatography. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.82, p.1556-1563, 2002.
- CHERN, M.K.; PIETRUSZKO, R. Evidence for mitochondrial localization of betaine aldehyde dehydrogenase in rat liver: purification, characterization, and comparison with human cytoplasmic E3 isozyme. **Biochem. Cell Biol.**, v.77, p.179-187, 1999.

- CLARKE, R.; SMITH, A.D.; JOBST, K.A.; REFSUM, H.; SUTTON, L.; UELAND, P.M. Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. **Arch Neurol.**, v. 55, p.1449-55, 1998.
- CLARKE, W.; DALY, L.; ROBINSON, K. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular diseases. **N. Engl. J. Med.**, v.324, p.1149-1155, 1991.
- COMBS, G.F. Jr. The vitamins. Academic Press, Inc., New York, NY. USA. p. 393-456, 1992.
- DAVIES, S.E.C.; WOOLF, D.A.; CHALMERS, R.A.; RAFTER, J.E.M.; ILES, R.A. Proton nmr studies of betaine excretion in the human neonate: consequences for choline and methyl group supply. **J. Nutr. Biochem.**, v.3, p.523-530, 1992.
- DRAGOLOVICH, J. Dealing with salt stress in animal cells: the role and regulation of glycine betaine concentrations. **J. Exper. Zool.**, v.168, p.139-144, 1994.
- DUNCAN, D.B. Multiple range and multiple F tests. **Biometrics** v.11, p.1-42, 1955.
- EDMONDS, M.S, BAKER, D.H. Comparative effects of individual amino acid excess, when added to a corn-soybean meal diet: effects on growth and dietary choice in the chick. **Journal of Animal Science**, v.65, p.699-705, 1987.
- EMMERT, J.L.; GARROW, T.A.; BAKER, D.H. Hepatic betaine-homocysteine methyltransferase activity in the chicken is influenced by dietary intake of sulfur amino acids, choline and betaine. **J. Nutr.**, v.126, p.2050–2058, 1996.
- ESTEVE-GARCIA, E.; MACK, S. The effect of DL-methionine and betaine on growth performance and carcass characteristics in broilers. **Animal Feed Sci. tech.**, v.87, p.85-93, 2000.
- FERKET, P.R. 1995. Flushing syndrome in commercial turkeys during the grow-out stage. In: Proceedings of the Smithkline Beecham Pacesetter Conference, National Turkey Federation Annual Meeting. Orlando, Florida, p.5–14. 1995
- FINKELSTEIN, J.D. Methionine metabolism in mammals. **J. Nutr. Biochem.**, v.1, p.228-237, 1990.
- FINKELSTEIN, J.D., Homocysteine: a history in progress. **Nutr Rev.**, v.58, p.193–204, 2000.
- FINKELSTEIN, J.D.; MARTIN, J.J. Methionine metabolism in mammals. Distribution of homocysteine between competing pathways. **J. Biol. Chem.**, v.259, p.9508–9513, 1984.
- FINKELSTEIN, J.D.; MARTIN, J.J.; HARRIS, B.J.; KYLE, W.E. Regulation of hepatic betaine-homocysteine methyltransferase by dietary betaine. **J. Nutr.**, v.113, p519–521, 1983.
- FINKELSTEIN, J.D.; MUDD, A.H. Trans-sulfuration in mammals: The methionine-sparing effect of cystine. **J. Biol. Chem.**, v.242, p.879-880, 1967.

- FRONTIERA, M.S.; STABLER, S.P.; KOLHOUSE, J.F.; ALLEN, R.H. Regulation of methionine metabolism: Effect of nitrous oxide and excess methionine. **J. Nutr. Biochem.**, v.5, p.28-38, 1994.
- GAHL, W.A.; BERNARDINI, I; CHEN, S. The effect of oral betaine on vertebral body bone density in pyridoxine-non-responsive homocystinuria. **J. Inherit. Metab. Dis.**, v.11, p.291-298, 1988.
- GARCIA-NETO, M.; PESTI, G.M.; BAKALLI, R.I. Influence of Dietary Protein Level on the Broiler Chicken's Response to Methionine and Betaine Supplements. **Poultry Science**, v.79, p.1478-1484, 2000.
- GWYTHYR, M.J.; BRITTON, W.M. The influence of coccidial infection and ionophore treatment on tissue cations and anions in broiler chicks. In: Proceedings of 5th International Coccidiosis Conference, Tours, France, 17-20 October 1989, INRA Services des Publications, p.279-284, 1989.
- HAFEZ, Y.S.; CHAVEZ, E.; VOHRA, P.; KRATZER, F.H. Methionine toxicity in chicks and poults. **Poult. Sci.**, v.57, p.699-703, 1978.
- HANSON, A.D.; RATHINASABAPATHI, B.; RIVOAL, J.; BURNET, M.; DILLON, M.O.; GAGE, D.A. Osmoprotective compounds in the Plumbaginaceae: A natural experiment in metabolic engineering of stress tolerance. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.91, p.306-310, 1994.
- HARMS, R.H.; MORENO, R.S.; DAMRON, B.L. Evidence for protein storage in laying hens and its utilization under nutritional stress. **Poultry Sci.**, v.50, p.592-595, 1971.
- HENDRICKS, W.A.; JULL, M.A.; TITUS, H.W. Possible physiological interpretation of the law of diminishing increment. **Science**, v.73, p.427-429, 1931.
- HICKLING, D.; GUENTER, W.; JACKSON, M.E. The effect of dietary methionine and lysine on broiler chicken performance and breast meat yield. **Canadian Journal of Animal Science**, v.70, p.673-678, 1990.
- HILT, G.; TUZIN, P. Clinical results using betaine citrate (Flacar) in fatty livers. **Med. Monatsschr.**, v.27, p.322-325, 1973.
- HOVE, E.L.; COPELAND, D.H.; SALMON, W.D. Choline deficiency in the rabbit. **J. Nutr.**, v.53, p.377-389, 1954.
- HUYGHEBAERT, G.; PACK, M. Effects of dietary protein content, addition of nonessential amino acids and dietary methionine to cysteine balance on responses to dietary sulphur-containing amino acids in broilers. **Brit. Poult. Sci.**, v.37, p.623-639, 1996.
- ISHIDATE, K. 1989. In: Phosphatidylcholine Metabolism (Vance, D. E., ed) , p. 9-32, CRC Press, Boca Raton, FL, 1989.
- JENG, G.; EDGAR, S.A. Effect of coccidiosis in broilers on digestion of nutrients. **Highlights of Agricultural Research**, v. 28, p.6, 1981.
- JENSEN, L.S; WYATT, C.L.; FRANCER, B.I. Sulphur amino acid requirement of broiler chickens from 3 to 6 weeks of age. **Poultry Science**, v.68, p.163-68, 1989.
- JUNNILA, M.; BARAK, A.J.; BECKENHAUER H.C.; RAHKO, T. Betaine reduces hepatic lipidosis induced by carbon tetrachloride in Sprague-Dawley rats. **Vet Hum Toxicol**, v.40, p.263-266, 1998.

- KANDZIORA, J. Therapeutic experience with the lipotropic hepatic drug Flacar in the internal medicine practice. **ZFA**, v.52, p.1561-1563, 1976.
- KERMANS SHAHI, H. Betaine Replacement for DL-Methionine in the Performance and Carcass Characteristics of Broiler Chicks. **J. Agric. Sci. Technol.**, v. 3, p.273-279, 2001.
- KETTUNEN, H.; PEURANEN, S.; TIHONEN, K.; SAARINEN, M. Intestinal uptake of betaine in vitro and the distribution of methyl groups from betaine, choline, and methionine in the body of broiler chicks. **Comparative Biochemistry and Physiology-Part A**, v.128, p.269-278, 2001c.
- KETTUNEN, H.; PEURANEN, S.; TIHONEN, K. Betaine aids in the osmoregulation of duodenal epithelium of broiler chicks, and affects the movement of water across the small intestinal epithelium in vitro. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A**, v.129, p.595-603, 2001b.
- KETTUNEN, H.; TIHONEN, K.; PEURANEN, S.; SAARINEN, M.T.; REMUS, J.C. Dietary betaine accumulates in the liver and intestinal tissue and stabilizes the intestinal epithelial structure in healthy and coccidia-infected broiler chicks. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A**, v. 130, p.759-769, 2001a.
- KHALIL, A.A.; THOMAS, O.P.; COMBS, G.F. Influence of body composition, methionine deficiency or toxicity and ambient temperature on feed intake in chick. **Journal of Nutrition**, v.96, p.337-341. 1968.
- KIDD, M.T.; FERKET, P.R.; GARLICH, J.D. Nutritional and osmoregulatory functions of betaine. **World Poultry Sci. J.**, v.53, p.125-139, 1997.
- KIM SK, KIM YC, KIM YC. Effects of singly administered betaine on hepatotoxicity of chloroform in mice. **Food Chem. Toxicol.**, v.36, p.655-661, 1998.
- KONOSU, S.; HAYASHI, T. Determination of beta-alanine betaine and glycine betaine in some marine invertebrates. **Bull. Jp. Soc. Sci. Fish.**, v.41, p.743-746, 1975.
- KRAMAR, R.; KREMSSEN, K.; RAAB, R. Enhancement of choline dehydrogenase activity in rat liver mitochondria by clofibrate feeding. **Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.**, v.365, p.1207-1210, 1984.
- KREBS, H.A.; HEMS, R.; TYLER, B. Regulation of folate and methionine metabolism. **Biochem. J.**, v.158, p.341-353, 1976.
- KROENING, G.H.; POND, W.G. Methionine, choline, and threonine interrelationships for growth and lipotropic action in the baby pig and rat. **J. Anim. Sci.**, v.26, p.352-356, 1967.
- LANDGREN, F.; ISRAELSSON, B.; LINDGREN, A. Plasma homocysteine in acute myocardial infarction: homocysteine-lowering effect of folic acid. **J Int Med.**, v.237, p.381-388, 1995.
- LERNER, J.; SATTELMAYER, P.; RUSH, R. Kinetics of methionine influx into various regions of chicken intestine. **Comp. Biochem. Biophys.**, v.50A, p.113-120, 1975.

- LeRUDULIER, D.; STROM, A.R.; DANDELKAR, A.M.; SMITH, T.T.; VALENTINE, R.C. **Molecular biology of osmoregulation**. *Science*, v.224, p.1064-1068, 1984.
- LEVER, M.; SIZELAND, P.C.P.; BASON, L.M.; HAYMAN, C.M.; ROBSON, R.A.; CHAMBERS, S.T. Abnormal glycine betaine content of the blood and urine of diabetic and renal patients. *Clinica Chimica Acta*, v.230, p.69-79, 1994.
- LITTELL, R.C.; LEWIS, A.J.; HENRY, P.R. Statistical evaluation of bioavailability assays. In: Ammerman, C. B.; Baker, D. H.; Lewis, A.J. (ed) *Bioavailability of nutrients for animal: amino acids, minerals and vitamins*, p.11-33, Academic Press, San Diego, GA., 1995.
- LOWRY, K.R.; IZQUIERDO, Q.A.; BAKER, D.H. Efficacy of betaine relative to choline as a methyl donor. *Poultry Sci.*, v.66 (Suppl.), p.135 (abstr.), 1987.
- LUDKE, J.V.; PENZ Jr, A.M.; KESSCER, A.M.; CATTELAN, E. Jr. Utilização da betaina em rações para frangos de corte. In: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola. *Anais*. Santos, APINCO, 1994. p.57-58.
- MAENZ, D.D.; ENGELE-SCHAAN, C.M. Methionine and 2-hydroxy-4-methylthiobutanoic acid are transported by distinct Na(+)-dependent and H(+)-dependent systems in the brush border membrane of the chick intestinal epithelium. *J. Nutr.*, v.126, p.529-536, 1996.
- MANN, P.J.G.; WOODWARD, H.E.; QUASTEL, J.H. Hepatic oxidation of choline and arsenocholine. *Biochem J.*, v.32, p.1024-1032, 1938.
- MATTHEWS, J.O.; WARD, T.L.; SOUTHERN, L.L. Interactive effects of betaine (Betafin-BCR) and Monensin in Eimeria acervulina-infected chicks. *Poult. Sci.*, v.74, p.179 (Abstr.), 1995.
- McCULLY K. S. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969;56:111-28.
- McDOUGALD, L.R.; REID, W.M. Coccidiosis. 1990. In: *Diseases of poultry*, 9th Edition, Calnek, (Editor), Iowa State University Press, Ames, IA, USA. p.780-797, 1990.
- McKEEVER, M.P.; WEIR, D.G.; MOLLOY, A.; SCOTT, J.M. Betaine-homocysteine methyltransferase: organ distribution in man, pig and rat and subcellular distribution in the rat. *Clin. Sci. (Colch)*, v.81, p.551-556, 1991.
- McLEOD, J.A. Nutritional factors influencing carcass fat in broilers - A review. *World's Poultry Science Journal*, v.38, p.194-200. 1982.
- MENDONÇA, C.X.; JENSEN, L.S. Influence of protein concentration on the sulphur amino acid requirement of broiler chickens during the finishing period. *British Poultry Science*, v.30, p.889-898, 1989.
- MENTEN, J.F.M.; PESTI, G.M. A new method for determining the availability of choline in soybean meal. *Poultry Sci.*, v.76, p.1292-1297, 1997.
- MOLITORIS, B.A.; BAKER, D.H. Assessment of the quantity of biologically available choline in soybean meal. *J. Anim. Sci.*, v.42, p.481-489, 1976a.
- MOLITORIS, B.A.; BAKER, D.H. Choline utilization in the chick as influenced by levels of dietary protein and methionine. *J. Nutr.*, v.106, p.412-418, 1976b.

- MOLITORIS, B.A.; BAKER, D.H. The choline requirement of broiler chicks. **Poultry Sci.**, v.55, p.220-224, 1976c.
- MONGIN, P. Ionic constituents and osmolality of the small intestinal fluids of the laying hen. **Br. Poult. Sci.**, v.17, p.383-392, 1976.
- MULLER, T.; WERNE, B.; FOWLER, B.; KUHN, W. Nigral endothelial dysfunction, homocysteine, and Parkinson's disease. **Lancet.**, v.354(9173), p.126-127, 1999.
- MURAKAMI, T.; NAGAMURA, Y.; HIRANO, K. The recovering effect of betaine on carbon tetrachloride-induced liver injury. **J. Nutr. Sci. Vitaminol.**, v.44, p.249-255, 1998.
- NATIONAL RESEARCH COUICIL, 1994. Nutrient Requirement of Poultry, 9th rev. ed., **National Academy Press**, Washington, D.C. 1994, 155p.
- NEWBERNE, P.M. The methyl deficiency model: History characteristics and research directions. **J. Nutr. Biochem.**, v.4, p.618-624, 1993.
- NICROSINI, F. Therapeutic activity of betaine aspartate. **Clin. Ter.**, v.61, p.227-236, 1972.
- PACK, M. Proteína ideal para frangos de corte. Conceitos e posição atual. In: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola, 1995, **Anais**. Curitiba, APINCO, 1995, p. 95-110.
- PARR, J.F.; SUMMERS, J.D. The effects of minimizing amino acid excesses in broiler diets. **Poultry Science**, v.70, p.1540-1549, 1991.
- PESTI, G.M. Characterisation of the response of male broiler chickens to diets of various protein and energy contents. **British Poultry Science**, v.23, p.527-537, 1982.
- PESTI, G.M. The nutrition of methyl group donors in broiler chickens. In: Proc. Maryland Nutr. Conf., 1989, College Park, MD., 1989. p.145-150
- PESTI, G.M.; BAKALLI, R.I.; CERVANTES, H.M.; BAFUNDO, K.W. Studies on semduramicin and nutritional responses: 2. Methionine levels. **Poultry Science**, v.78, p.1170-1176, 1999.
- PESTI, G.M.; BENEVENGA, N.J.; HARPER, A.E.; SUNDE, M.L. Factors influencing the assessment of the availability of choline in feedstuffs. **Poultry Science**, v.60, p.188-196, 1981.
- PESTI, G.M.; HARPER, A.E.; SUNDE, M.L. Choline/methioine nutrition of starting broiler chicks; three models for estimating the choline requirement with economic considerations. **Poultry Sci.**, v.59, p.1073-1081, 1980.
- PESTI, G.M.; HARPER, A.E.; SUNDE, M.L. Sulfur amino acid and methyl donor status of corn-soy diets fed to starting broiler chicks. **Poultry Sci.**, v.58, p.1541-1547, 1979.
- PETRININI, P.G.; DeANGELIS, E.M.; BORGHETTI, P.; BORGHETTI, A.F.; WHEELER, K.P. Modulation by betaine of cellular responses to osmotic stress. **Biochem. J.**, v.282, p.69-73, 1992.
- PETRONINI, P.G.; DeANGELIS, E.M.; BORGHETTI, A.F.; WHEELER, K.P. Osmotically inducible uptake of betaine via amino acid transport system A in SV-3T3 cells. **Biochem. J.**, v.300, p.45-50, 1994.

- REFSUM, H.; UELAND, P.M.; NYGARD, O.; VOLLSET, S.E. Homocysteine and cardiovascular disease. **Annu. Rev. Med.**, v.49, p.31-62, 1998.
- ROMPALA, R.; KING, B. Dietary aspects of choline. **Feed Mix**, v.3, p.36–39, 1995.
- ROSA, A.P.; PESTI, G.M.; EDWARDS, Jr.H.M.; BAKALLI, R.I. Threonine requirements of different broiler genotypes, **Poul. Sci.**, v.80, p.1710-1717, 2001.
- ROSTAGNO, H.S.; PACK, M. Can betaine replace supplemental DL-methionine in broiler diets? **J. Appl. Poultry Res.**, v.5, p.150-154, 1996.
- RUDOLF, J.F.; RAMON, C.L. Sas System for Regression (Wiley Series in Probability and Statistics) Second Edition, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, 210p, 1995.
- RUFF, M.D. In: Avian Coccidiosis. Malabsorption from the intestine of birds with coccidiosis., p. 281-295, 1978.
- RUFF, M.D.; ALLEN, P.C. Pathophysiology. In: Coccidiosis of man and domestic animals, P.C. Long (Editor), CPC Press, Boca Raton, FL. USA. p. 263-280, 1990.
- RUIZ, N.; MILES, R.D.; HARMS, R.H. Choline, methionine and sulphate interrelationships in poultry nutrition-A review. *World's Poultry Science Journal*, v. 39, p.185-198, 1983.
- RUMSEY, G.L. Choline-betaine requirements of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v.95, p.107-116, 1991.
- SAARINEN, M.T.; KETTUNEN, H.; PULLIAINEN, K.; PEURANEN, S.; TIIHONEN, K.D.; REMUS, J. A novel method to analyse betaine in chicken liver – the effect of dietary betaine and choline supplementation on the hepatic betaine concentration in broiler chicks. **Agric. Food Chem.**, v.49, p.559-563, 2001.
- SAITOH, H.; KOBAYASHI, M.; SUGAWARA, M.; ISEKI, K.; MIYAZAKI, K. Carrier-mediated transport system for choline and its related quaternary ammonium compounds on rat intestinal brush-border membrane. **Biochim. Biophys. Acta**, v.1112, p.153–160, 1992.
- SAKOMURA, N.K.; BASÁGLIA, R.; RESENDE, K.T. Modelo para determinar as exigências de proteína bruta para poedeiras. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.2247-2254, 2002.
- SAKOMURA, N.K.; JUNQUEIRA, O.M., KIMURA, M.E. Substituição da metionina e colina por betaína em rações de frangos de corte. In: Conferência APINCO de Ciência e Tecnologia Avícola. **Anais**. Santos, APINCO, 1992. p. 259.
- SAS Institute, 1985. SAS® Users Guide: Statistics. Version Five Edition.. SAS Institute, Inc., Cary, NC.
- SAUNDERSON, L.C.; MacKINLAY, J. Changes in body weight, composition, and hepatic enzyme activities in response to dietary methionine, betaine, and choline levels in growing chicks. **British J. Nutr.**, v.63, p.339-349, 1990.

- SCHEUERMANN, G.N.; MAIER J.C.; BELLAVER, C.; FIALHO, F.B. Metionina e lisina no desenvolvimento de frangos de corte. **Rev. Bras. de Agrociência**, v.1, p.75-86, 1995.
- SCHRAMA, J.W.; GERRITS, W.J.J. 2000. Effect of dietary betaine supplementation on energy partitioning in pigs. Internal report, *Wageningen Agricultural University*, The Netherlands. 24 p. 2000.
- SCHUTTE, J.B.; DE-JONG, J.; SMIK, W.; PACK, M. Replacement value of betaine for DL-methionine in male broiler chicks. **Poultry Sci.**, v.76, p.321-325, 1997.
- SCHUTTE, J.B.; De-JONG; PACK, M. 1995. Replacement value of betaine for methionine in broiler chicks. In: Proc. 10th European Symposium on Poultry Nutr., Antalya, Turkey. 1995. p.395-396.
- SCHUTTE, J.B.; PACK, M. Sulfur amino acid requirement of broiler chicken from fourteen to thirty-eight days of age. 1. Performance and carcass yield. **Poultry Science**, v.74, p.480-487, 1995.
- SCOTT, J.M. Folate and vitamin B12. **Proc. Nutr. Soc.**, v.58, p.441-448, 1999.
- SELHUB J. Homocysteine metabolism. **Annu. Rev. Nutr.**, v.19, p.217-246, 1999.
- SEMMLER, F. Treatment of liver diseases, especially of fatty liver with betaine citrate. **Ther. Ggw.**, v.116, p.2113-2124, 1977.
- SILJANDER-RASI, H.; PEURANEN, S.; TIIHONEN, K.; VIRTANEN, E.; KETTUNEN, H.; ALAVIUHKOLA, T. .; SIMMINS, P. H. Effect of equi-molar dietary betaine and choline addition on performance, carcass quality and physiological parameters of pigs **Animal Science**, v.76, p.55-62, 2003.
- SILVA, M.A.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; SILVA, M.A.; VARGAS, J.R.J.G.. Níveis de metionina + cistina e de proteína bruta para frangos de corte. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, p.26, p.350-356, 1997.
- SILVA, M.A.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; SILVA, M.A.; VARGAS, J.R.J.G. Rendimento de carcaça de frangos de corte em função dos níveis de proteína bruta e metionina + cistina na ração. In: Anais da 33^o Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. **Anais**. Fortaleza; 1996; CE. Brasil. p.86-7.
- SMOLIN, L.A.; BENEVENGA, N.J. Methionine, homocysteine, cysteine-metabolic interrelationships. In Absorption and utilization of amino acids, volume 1, Meldel Friedman (Editor), CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, USA. p.155-187, 1989.
- SODERLING, E.; LE-BELL, A.; KIRSTILA, V.; TENOVUO, J. Betaine-containing toothpaste relieves subjective symptoms of dry mouth. **Acta Odontol Scand.**, v.56, p.65-69, 1998.
- STAMLER, J; SLIVKA, A. Biological chemistry of thiols in the vasculature-related disease. **Nutr. Rev.**, v.54, p.1-30, 1996.

- STEEGERS-THEUNISSEN, R.P.M.; BOERS, G.H.G.; TRIJBELS, F.J.M.; FINKELSTEIN, J.D.; BLOM, H.J.; THOMAS, C.M.G.; BORM, G.F. Maternal hyperhomocysteinaemia: a risk factor for neural-tube defects?. **Metabolism**, v.43, p.1475-1480, 1994.
- STEINRUCK, U.; ROTH, F.X.; KIRCHGEBNER, M. Selektive Futteraufnahme von Broilern bei Methioninmangel. **Archiv für Geflügelkunde**, v.54, p.173-183, 1990.
- STEKOL, J.A.; HSU, P.T.; WEISS, S.; SMITH, P. Labile methyl group and its synthesis de novo in relation to growth in chicks. **J. Biol. Chem.**, v.203, p.763-773, 1953.
- STIPANUK, M.H. Metabolism of sulfur-containing amino acids. **Ann. Rev. Nutr.** v.6, p.179-209, 1986.
- STRYER, L., 1995. In: *Biochemistry* (4th Edition ed.), Freeman, New York, p. 1064.
- SUMMERS, J.D.; LEESON, S. Broiler carcass composition as affected by amino acid supplementation. **Can. J. Anim. Sci.**, v.65, p.717-723, 1985.
- THWAITES, D.T.; MCEWAN, G.T.; SIMMONS, N.L. The role of the proton electrochemical gradient in the transepithelial absorption of amino acids by human intestinal CaCo-2 cell monolayers. **J. Membr. Biol.**, v.145, p.245-256, 1995.
- TIIHONEN, K.; KETTUNEN, H.; REMUS, J.; SAARINEN, M.; VIRTANEN, E. Effects of dietary betaine on broiler chicks with or without coccidiosis challenge. **Poultry Sci.**, v.76, p.1-18, 1997.
- TYLER, D.D. Transport and oxidation of choline by liver mitochondria. **Biochem. J.** v.166, p.571-581, 1977.
- VanGULDENER, C.; JANSSEN, M.J.; DE-MEER, K. Effect of folic acid and betaine on fasting and postmethionine-loading plasma homocysteine and methionine levels in chronic haemodialysis patients. **J. Intern. Med.**, v.245, p.175-83, 1999.
- VIRTANEN, E.; ROSI, L. Effects of betaine on methionine requirement of broilers under various environmental conditions. 1995. In: Proc. Australian Poultry Sci. Symposium, Sydney, Australia, 1995. p. 88-92.
- VIRTANEN, E.; RUMSEY, G., Betaine supplementation can optimize use of methionine, choline in diets. **Feedstuffs**, v.68, p.12-13, 1996.
- WALDENSTEDT, L.; ELWINGER, K.; THEBO, P.; UGGLA, A. Effect of betaine supplement on broiler performance during an experimental coccidial infection. **Poultry Sci.** v.78, p.182-189, 1999.
- WALDROUP, P.W. Nutrient requirements of broilers. In: Simpósio internacional sobre exigências nutricionais de aves e suínos, Viçosa, 1996. **Anais. MG**, 1996. p.55-63.
- WELCH, G.N.; LOSCALZO, J. Homocyst(e)ine and atherothrombosis. **N.Engl.J. Med.**, v.338, p.1042-1050, 1998.

- WILCKEN, D.E.; WILCKEN, B.; DUDMAN, N.P.; TYRRELL, P.A. Homocystinuria—the effects of betaine in the treatment of patients not responsive to pyridoxine. **N Engl J Méd.**, v.309, p.448-453, 1983.
- WOLFF, G.L.; KODELL, R.L.; MOORE, S.R.; COONEY, C.A. Maternal epigenetics and methyl supplements affect agouti gene expression in Avy/a mice. **FASEB J.**, v.12, p.949–957, 1998.
- WUNZ, T.M.; WRIGHT, S.H. Betaine transport in rabbit renal brush-border membrane vesicles. **Am. J. Physiol.**, v.264, p.F948-F955, 1993.
- YANCEY, P.H.; CLAR, M.E.; HAND, S.C.; BOWLUS, R.D.; SOMERO, G.N. Living with water stress: evaluation of osmolyte systems. **Science**, v.217, p.1214-1223, 1982.
- YODER, J.A.; WALSH, C.P.; BESTOR, T.H. Cytosine methylation and the ecology of intragenomic parasites. **Trends. Genet.**, v.13, p.335–340, 1997.
- ZEISEL, S.H.; MEI-HENG, M.A.R.; JULIETTE, C.H.; JOANNE, M.H. Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods the american society for nutritional sciences, **J. Nutr.** v.133, p.1302-1307, 2003.
- ZEISEL, S.H.; ZOLA, T.; DACOSTA, K.A.; POMFRET, E.A. Effect of choline deficiency on S-adenosylmethionine and methionine concentrations in rat liver. **Biochem. J.**, v.259, p.725–729, 1989.
- ZHANG, J.; BLUSZTAJN, J.K.; ZEISEL, S.H. Measurement of the formation of betaine aldehyde and betaine in rat liver mitochondria by a high pressure liquid chromatography-radioenzymatic assay. **Biochim. Biophys. Acta**, v.1117, p.333-339, 1992.

ANEXOS

Anexo A. Análise de superfície de resposta para o ganho de peso.

The SAS System

12:15 Tuesday, June 1, 2004 1

Coding Coefficients for the Independent Variables

Factor	Subtracted off	Divided by
MET	6.700000	6.700000
BET	6.700000	6.700000

The SAS System

12:15 Tuesday, June 1, 2004 2

Response Surface for Variable GANHO de PESO

Response Mean	742.403354
Root MSE	30.980207
R-Square	0.7193
Coef. of Variation	4.1730

Regression	Degrees		Type I Sum of Squares	R-Square	F-Ratio	Prob > F
	of Freedom					
Linear	2		94568	0.6586	49.266	0.0000
Quadratic	2		5067.412280	0.0353	2.640	0.0832
Crossproduct	1		3649.512556	0.0254	3.802	0.0579
Total Regress	5		103285	0.7193	21.523	0.0000

Residual	Degrees		Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
	of Freedom					
Lack of Fit	6		8313.309290	1385.551548	1.559	0.1876
Pure Error	36		31997	888.810146		
Total Error	42		40310	959.773204		

Parameter	Degrees of Freedom	Parameter Estimate	Standard Error	T for H0: Parameter=0	Prob > T	Parameter Estimate
						from Coded Data
INTERCEPT	1	628.627907	14.031227	44.802	0.0000	752.293988
MET	1	16.474801	3.399967	4.846	0.0000	51.291244
BET	1	8.958208	3.225513	2.777	0.0082	25.639754
MET*MET	1	-0.499211	0.244869	-2.039	0.0478	-22.409561
BET*MET	1	-0.317906	0.163029	-1.950	0.0579	-14.270804
BET*BET	1	-0.223986	0.211310	-1.060	0.2952	-10.054719

Factor	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
BET	3	21342	7113.916511	7.412	0.0004

The SAS System

12:15 Tuesday, June 1, 2004 3

Canonical Analysis of Response Surface
(based on coded data)

Critical Value

Factor	Coded	Uncoded
MET	0.953997	13.091778
BET	0.598001	10.706604

Predicted value at stationary point 784.426121

Eigenvectors

Eigenvalues	MET	BET
-6.794212	-0.415613	0.909541
-25.670068	0.909541	0.415613

Stationary point is a maximum.

Anexo B. Análise de superfície de resposta para o consumo de ração.

The SAS System

12:15 Tuesday, June 1, 2004 4

Response Surface for Variable CONSUMO DE RAÇÃO

Response Mean 975.895292
 Root MSE 39.166766
 R-Square 0.3485

Coef. of Variation 4.0134

Regression	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	R-Square	F-Ratio	Prob > F
Linear	2	27962	0.2827	9.114	0.0005
Quadratic	2	4751.398774	0.0480	1.549	0.2244
Crossproduct	1	1752.136198	0.0177	1.142	0.2913
Total Regress	5	34465	0.3485	4.493	0.0023

Residual	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
Lack of Fit	6	2127.292731	354.548789	0.205	0.9730
Pure Error	36	62302	1730.616711		
Total Error	42	64429	1534.035579		

Parameter	Degrees of Freedom	Parameter Estimate	Standard Error	T for H0: Parameter=0	Prob > T	Estimate from Coded Data
INTERCEPT	1	908.501184	17.738997	51.215	0.0000	990.491328
MET	1	10.926765	4.298413	2.542	0.0148	28.652678
BET	1	7.595858	4.077859	1.863	0.0695	11.226036
MET*MET	1	-0.386150	0.309576	-1.247	0.2192	-17.334251
BET*MET	1	-0.220275	0.206110	-1.069	0.2913	-9.888147
BET*BET	1	-0.331678	0.267149	-1.242	0.2213	-14.889031

Factor	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
MET	3	29364	9787.932391	6.381	0.0012
BET	3	6853.814129	2284.604710	1.489	0.2313

The SAS System

12:15 Tuesday, June 1, 2004 5

Canonical Analysis of Response Surface
(based on coded data)

Factor	Critical Value	
	Coded	Uncoded
MET	0.794167	12.020917
BET	0.113278	7.458962

Predicted value at stationary point 1002.504660

Eigenvalues	Eigenvectors	
	MET	BET
-11.018642	-0.616418	0.787419
-21.204640	0.787419	0.616418

Stationary point is a maximum.

Anexo C. Análise de superfície de resposta para a conversão alimentar.

The SAS System

12:15 Tuesday, June 1, 2004 6

Response Surface for Variable CONVERSÃO ALIMENTAR

Response Mean	1.335854
Root MSE	0.062972
R-Square	0.4605
Coef. of Variation	4.7140

Regression	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	R-Square	F-Ratio	Prob > F
Linear	2	0.116873	0.3786	14.736	0.0000
Quadratic	2	0.008604	0.0279	1.085	0.3472
Crossproduct	1	0.016685	0.0540	4.207	0.0465
Total Regress	5	0.142162	0.4605	7.170	0.0001

Residual	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
Lack of Fit	6	0.036353	0.006059	1.675	0.1554
Pure Error	36	0.130197	0.003617		
Total Error	42	0.166550	0.003965		

Parameter	Degrees of Freedom	Parameter Estimate	Standard Error	T for H0: Parameter=0	Prob > T	Parameter Estimate from Coded Data
INTERCEPT	1	1.484706	0.028521	52.057	0.0000	1.318673
MET	1	-0.019653	0.006911	-2.844	0.0069	-0.050545
BET	1	-0.016169	0.006556	-2.466	0.0178	-0.041509
MET*MET	1	0.000564	0.000498	1.133	0.2637	0.025309
BET*MET	1	0.000680	0.000331	2.051	0.0465	0.030513
BET*BET	1	0.000404	0.000430	0.942	0.3518	0.018156

Factor	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
MET	3	0.098531	0.032844	8.282	0.0002
BET	3	0.060316	0.020105	5.070	0.0044

The SAS System

12:15 Tuesday, June 1, 2004 7

Canonical Analysis of Response Surface
(based on coded data)

Factor	Critical Value	
	Coded	Uncoded
MET	0.627147	10.901887
BET	0.616111	10.827945

Predicted value at stationary point 1.290037

Eigenvalues	Eigenvectors	
	MET	BET
0.037403	0.783657	0.621194
0.006062	-0.621194	0.783657

Stationary point is a minimum.

Anexo D. Análise de superfície de resposta para a gordura abdominal

The SAS System

12:15 Tuesday, June 1, 2004 8

Response Surface for Variable GORDURA ABDOMINAL

Response Mean	1.141125
Root MSE	0.187365
R-Square	0.1865
Coef. of Variation	16.4194

Regression	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	R-Square	F-Ratio	Prob > F
Linear	2	0.247755	0.1367	3.529	0.0383
Quadratic	2	0.057351	0.0316	0.817	0.4487
Crossproduct	1	0.032949	0.0182	0.939	0.3382
Total Regress	5	0.338054	0.1865	1.926	0.1103

Residual	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
Lack of Fit	6	0.299556	0.049926	1.530	0.1965
Pure Error	36	1.174887	0.032636		
Total Error	42	1.474443	0.035106		

Parameter	Degrees of Freedom	Parameter Estimate	Standard Error	T for H0: Parameter=0	Prob > T	Parameter Estimate from Coded Data
INTERCEPT	1	1.256674	0.084860	14.809	0.0000	1.088491
MET	1	-0.027338	0.020563	-1.329	0.1909	-0.084233
BET	1	-0.007978	0.019508	-0.409	0.6847	-0.015518
MET*MET	1	0.001580	0.001481	1.067	0.2923	0.070905
BET*MET	1	-0.000955	0.000986	-0.969	0.3382	-0.042879
BET*BET	1	0.000900	0.001278	0.704	0.4851	0.040406

Factor	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
MET	3	0.302063	0.100688	2.868	0.0477
BET	3	0.068940	0.022980	0.655	0.5846

The SAS System

12:15 Tuesday, June 1, 2004 9

Canonical Analysis of Response Surface
(based on coded data)

Factor	Critical Value	
	Coded	Uncoded
MET	0.776649	11.903549
BET	0.604116	10.747580

Predicted value at stationary point 1.051094

Eigenvalues	Eigenvectors	
	MET	BET
0.081966	0.888710	-0.458469
0.029346	0.458469	0.888710

Stationary point is a minimum.