

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EXTENSÃO DOS EFEITOS DAS TÉCNICAS DE
FORMULAÇÃO DE NÍVEIS EXPERIMENTAIS DE
METIONINA + CISTINA SOBRE AS RESPOSTAS
FISIOLÓGICAS DE POEDEIRAS COMERCIAIS**

**Manoela Garcia Borgi Lino de Sousa
Médica Veterinária**

2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**EXTENSÃO DOS EFEITOS DAS TÉCNICAS DE
FORMULAÇÃO DE NÍVEIS EXPERIMENTAIS DE
METIONINA + CISTINA SOBRE AS RESPOSTAS
FISIOLÓGICAS DE POEDEIRAS COMERCIAIS**

**Discente: Manoela Garcia Borgi Lino de Sousa
Orientador: Prof. Dr. Edney Pereira da Silva
Coorientadora: Michele Bernardino de Lima**

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de Mestre
em Ciência Animal.**

2023

S725e

Sousa, Manoela Garcia Borgi Lino de
Extensão dos efeitos das técnicas de formulação de níveis
experimentais de metionina + cistina sobre as respostas
fisiológicas de poedeiras comerciais /Manoela Garcia Borgi
Lino de Sousa. -- Jaboticabal, 2023
42 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
(Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,
Jaboticabal

Orientadora: Edney Pereira da Silva
Coorientadora: Michele Bernardino de Lima

1. Avicultura. 2. Nutrição. 3. Metionina I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EXTENSÃO DOS EFEITOS DAS TÉCNICAS DE FORMULAÇÃO DE NÍVEIS EXPERIMENTAIS DE METIONINA + CISTINA SOBRE AS RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE POEDEIRAS COMERCIAIS

AUTORA: MANOELA GARCIA BORGHI LINO DE SOUSA

ORIENTADOR: EDNEY PEREIRA DA SILVA

COORDENADORA: MICHELE BERNARDINO DE LIMA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciência Animal, área: Nutrição Animal pela Comissão Examinadora:

Michele Bernardino de Lima

Dra. MICHELE BERNARDINO DE LIMA (Participação Presencial)
Universidade Brasil / Fernandópolis/SP

Rafaela Pereira

Dra. RAFAELA PEREIRA (Participação Presencial)
Kemin América do Sul Industries, Inc. / Valinhos/SP

Profa. Dra. LIZANDRA AMOROSO (Participação Presencial)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente

LIZANDRA AMOROSO

Data: 13/02/2023 22:15:09-0300

Verifique em <https://verificador.iti.br>

Jaboticabal, 13 de janeiro de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

MANOELA GARCIA BORGHI LINO DE SOUSA – Nasceu em 6 de junho de 1997, no município de Ribeirão Preto, no estado de São Paulo. Iniciou o curso de medicina veterinária em 2016, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP Jaboticabal. Durante a graduação desenvolveu projetos de iniciação científica na área de avicultura, sob orientação do Prof. Dr. Edney Pereira da Silva. Concluiu a graduação em 2021, mesmo ano em que ingressou no programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, no curso de mestrado, sob mesma orientação.

Sentimento do mundo

Tenho apenas duas mãos
e o sentimento do mundo,
mas estou cheio escravos,
minhas lembranças escorrem
e o corpo transige
na confluência do amor.

Quando me levantar, o céu
estará morto e saqueado,
eu mesmo estarei morto,
morto meu desejo, morto
o pântano sem acordes.

Os camaradas não disseram
que havia uma guerra
e era necessário
trazer fogo e alimento.
Sinto-me disperso,
anterior a fronteiras,
humildemente vos peço
que me perdoeis.

Quando os corpos passarem,
eu ficarei sozinho
desafiando a recordação
do sineiro, da viúva e do microcopista
que habitavam a barraca
e não foram encontrados
ao amanhecer
esse amanhecer
mais noite que a noite.

Carlos Drummond de Andrade

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à minha família, em especial aos meus pais Marco Antônio e Heloisa, minhas irmãs, Angélica e Maria, minha avó Alice e sua irmã Eva, aos meus tios, Luis Fernando e Fabiana e meus primos Caio e Caique, por todo o apoio, amor e paciência comigo. Vocês me inspiram e me motivam todos os dias.

À Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Câmpus de Jaboticabal e ao Laboratório de Ciências Avícolas pela disponibilidade das instalações e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Empresa CJ do Brasil, pela doação dos aminoácidos e todo suporte técnico antes, durante e após a realização do ensaio.

À toda equipe do Poultry Education Group (PEG), membros e ex-membros, pela colaboração na execução dos experimentos e pelos momentos compartilhados, essenciais para o meu desenvolvimento acadêmico e pessoal.

Ao meu orientador Prof. Dr. Edney Pereira da Silva, pela orientação, todos ensinamentos acadêmicos e oportunidades que me ofereceu. A Prof.^a Dr.^a Michele Bernardino de Lima, pelo suporte e coorientação.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, muito obrigada.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	II
ABSTRACT.....	III
CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais	1
Introdução.....	1
Aminoácidos Sulfurados e Suas Vias Metabólicas.....	2
Técnicas para Formulação de Ração.....	3
Marcadores do Metabolismo Proteico.....	4
Referências.....	6
CAPÍTULO 2 - Efeito das Técnicas de Formulação e dos Níveis de Metionina + Cistina Sobre a Resposta de Poedeiras Comerciais.....	10
Resumo.....	11
Introdução.....	11
Material e Métodos.....	12
Aves, Instalações e Delineamento Experimental.....	12
Diets Experimentais.....	12
Diluição.....	12
Suplementação	15
Variáveis Coletadas e Analisadas.....	17
Desempenho.....	17
Análise Morfológica do Fígado.....	17
Bioquímica Sanguínea.....	17
Análises Estatísticas.....	18

Resultados e Discussão.....	18
Desempenho	18
Análise Morfológica do Fígado	21
Bioquímica Sanguínea	24
Conclusões.....	28
Referências.....	29

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **“Extensão dos efeitos das técnicas de formulação de níveis experimentais de metionina + cistina sobre as respostas fisiológicas de poedeiras comerciais”**, protocolo nº 502/22, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Edney Pereira da Silva, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 16 de fevereiro de 2022.

Vigência do Projeto	24/02/2022 a 24/01/2024
Espécie / Linhagem	<i>Gallus gallus domesticus</i> / Poedeiras comerciais / Hy-line Brown
Nº de animais	160
Peso / Idade	1,6 – 1,7kg / 37 semanas
Sexo	Fêmeas
Origem	Sítio Yaiota – Mirandópolis/SP – 16.800-000

Jaboticabal, 20 de fevereiro de 2022.


Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

EXTENSÃO DOS EFEITOS DAS TÉCNICAS DE FORMULAÇÃO DE NÍVEIS EXPERIMENTAIS DE METIONINA + CISTINA SOBRE AS RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE POEDEIRAS COMERCIAIS

RESUMO – Esta pesquisa avaliou as respostas fisiológicas de poedeiras comerciais submetidas a níveis de metionina + cisteína na dieta formulados pelas técnicas da diluição e suplementação. O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso, com 160 aves em pico postura da linhagem Hy-line Brown, com 15 tratamentos e um grupo controle, contendo 10 repetições de uma ave cada. Os tratamentos foram em arranjo fatorial, sendo sete níveis de Met + Cis obtidos pela técnica da diluição e sete níveis de Met + Cis obtidos pela técnica da suplementação. Os níveis de Met + Cis estabelecidos foram 0.415%, 0.447%, 0.593%, 0.601%, 0.663%, 0.725% e 0.806% de metionina + cistina digestível (Met + Cis), para ambas as técnicas. O experimento teve duração de 10 semanas, sendo 6 de adaptação e 4 de coleta de dados. As variáveis de desempenho zootécnico coletadas foram: consumo de ração, produção de ovos e peso do ovo. As variáveis bioquímicas foram: aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, proteína total, albumina, e ácido úrico. Os fígados foram submetidos à análise morfológica. O desempenho foi afetado pelo nível de Met + Cis nas dietas, somente o peso do ovo foi afetado pela técnica utilizada. Peso corporal, peso do fígado e número de hepatócitos apresentaram efeito para os níveis de Met + Cis, somente peso do fígado e peso relativo do fígado foram afetados pelas técnicas de formulação. Todas as variáveis bioquímicas foram afetadas pelos níveis de Met + Cis e somente o ácido úrico apresentou efeito para a técnica. As técnicas de formulação apresentaram efeitos semelhantes, sendo equivalentes em relação aos efeitos causados nas respostas de desempenho e saúde das aves.

Palavras-chave: diluição, metionina, postura comercial, saúde hepática, suplementação

EXTENSION OF THE EFFECTS OF THE TECHNIQUES FOR FORMULATION OF EXPERIMENTAL LEVELS OF METHIONINE + CYSTINE ON THE PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF COMMERCIAL LAYERS

ABSTRACT – This research evaluated the physiological responses of commercial laying hens submitted to methionine + cysteine levels in the diet formulated by dilution and supplementation techniques. The design used was completely randomized, with 160 birds in peak posture of the Hy-line Brown strain, with 15 treatments and a control group, containing 10 replicates of one bird each. The treatments were in factorial arrangement, being seven levels of Met + Cis obtained by the dilution technique and seven levels of Met + Cis obtained by the supplementation technique. The established Met + Cis levels were 0.415%, 0.447%, 0.593%, 0.601%, 0.663% 0.725% and 0.806% methionine + digestible cystine (Met + Cis), for both techniques. The experiment lasted 10 weeks, 6 of which were adaptation and 4 were data collection. The variables of zotechnical performance collected were: feed intake, egg production and egg weight. Biochemical variables were aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, total protein, albumin, and uric acid. The livers were submitted to morphological analysis. Performance was affected by met + Cis level in diets, only egg weight was affected by the technique used. Body weight, liver weight and number of hepatocytes had effect for Met + Cis levels, only liver weight and relative liver weight were affected by formulation techniques. All biochemical variables were affected by Met + Cis levels and only uric acid had an effect on the technique. The formulation techniques presented similar effects, being equivalent in relation to the effects caused in the performance and health responses of birds.

Keywords: dilution, methionine, commercial posture, liver health, supplementation

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

Introdução

Ingredientes de origem vegetal, são as principais fontes proteicas utilizadas nas rações de aves em todo o mundo. Apesar disso, ingredientes como milho e farelo de soja podem não apresentar o perfil de aminoácidos necessários para a produção de ovos em galinhas poedeiras e crescimento em frangos de corte. A fim de contornar estas limitações, as dietas podem ser suplementadas com aminoácidos sintéticos.

Considerando o conceito de proteína ideal e o balanço entre aminoácidos essenciais e não essenciais, a utilização de aminoácidos industriais permite a redução nos níveis de proteína bruta das dietas, com o fornecimento de dietas que atendam de maneira mais precisa as necessidades dos animais. Esta alternativa, melhora a eficiência alimentar, reduz o custo das dietas (Beski et al., 2015) e equilibra a ingestão de nutrientes pelas aves, conservando recursos e minimizando a produção de resíduos (Wallis, 1999).

Além disso, a utilização de aminoácidos industriais reduz a excreção do nitrogênio proveniente da proteína dietética não aproveitada e conseqüentemente a produção e o acúmulo de amônia nas instalações. O gás amoníaco é produzido a partir da degradação, seguida pela volatilização dos compostos nitrogenados excretados pelas aves, em grandes concentrações este gás pode levar a prejuízos a saúde e bem estar dos animais e trabalhadores (Swelum et al, 2021).

A metionina é o primeiro aminoácido limitante nas dietas de galinhas poedeiras à base de milho e farelo de soja (Waldroup & Hellwig, 1995), devido à sua alta demanda para o crescimento das penas e síntese proteica (Bunchasak, 2009). Pode ser suplementada nas rações na sua forma análoga ácido 2-hidroxi-4- (metiltio) butanoico, L-metionina ou DL-metionina (Zhang et al., 2017). Este aminoácido é fundamental para diversos processos metabólicos como a formação da coenzima S-adenosilmetionina, é precursor da cisteína e a carnitina, além de ser um dos principais doadores de enxofre no metabolismo celular (Bunchasak, 2009).

Com isso, objetivou-se com essa pesquisa avaliar as respostas fisiológicas de galinhas poedeiras submetidas à diferentes níveis de metionina + cistina (Met + Cis) formulados pelas técnicas da diluição e suplementação dietéticas.

Revisão de literatura

Aminoácidos sulfurados e suas vias metabólicas

A metionina e a cisteína são os aminoácidos sulfurados incorporados às proteínas dietéticas. O metabolismo da metionina é dividido em três processos: transmetilação, remetilação e transulfuração (Castro & Kim, 2020). De acordo com Stipanuk (2004) a transmetilação, resulta na formação de S-adenosilmetionina (SAM), composto que age como doador de grupamentos metil através da ação de diferentes metiltransferases. Ainda segundo o autor, estes processos ocorrem para a biossíntese de compostos como a creatina, epinefrina, carnitina, fosfolipídeos, DNA e RNA. Após a doação do grupamento metil, a SAM torna-se S-adenosilhomocisteína (SAH), que é hidrolisada em homocisteína (Castro & Kim, 2020) e adenosina (Brosnan et al., 2004). A transmetilação provavelmente ocorre em todas as células do corpo (Brosnan et al., 2004). A homocisteína pode ser direcionada tanto para a remetilação quanto para a transulfuração (Williams & Schalinske, 2010). A remetilação consiste na adição de um grupamento metil à homocisteína, resultando na síntese de metionina (Castro & Kim, 2020), este processo pode ocorrer através de duas reações de remetilação, uma catalisada pela betaína-homocisteína metiltransferase e outra catalisada pela metionina sintetase (Brosnan & Brosnan, 2006), ambas as reações são sensíveis aos níveis de vitamina B (Brosnan et al., 2004), encontrada principalmente no fígado (Bydlowski et al., 1998). A transulfuração, por sua vez, consiste na transferência de uma molécula de enxofre para uma serina, resultando na formação da cisteína (Suzuki et al., 2020), esta conversão é irreversível (Castro & Kim, 2020). É a única via de catabolismo da metionina (Stipanuk, 2004) e ocorre somente no fígado, intestino, pâncreas e nos rins (Brosnan & Brosnan, 2006).

A metionina possui importância metabólica como doadora de grupos metil, por meio do cofator S-adenosilmetionina (Nelson & Cox, 2019) e como doadora de enxofre no metabolismo celular (Bunchasak, 2009). É precursora de outros aminoácidos

sulfurados como a cisteína (Bunchasak, 2009) e homocisteína (Brosnan et al, 2004) bem como de moléculas como a creatina e carnitina (Martinez et al., 2017). No fígado, pode ser utilizada indiretamente para a síntese de glutathione (Martinez et al., 2017), peptídeo que possui propriedades antioxidantes. Adicionalmente, a metionina é o aminoácido iniciador durante a tradução do RNA transportador nas células eucarióticas (Brosnan & Brosnan, 2006). A cisteína, formada a partir da transulfuração da metionina, está envolvida na formação do piruvato e da taurina (Nelson & Cox, 2019). Em relação à composição proteica, a cisteína tem um importante papel estrutural, pela capacidade de formar ligações dissulfeto com outros resíduos de cisteína (Brosnan & Brosnan, 2006), também chamadas de pontes de enxofre.

Técnicas para formulação de ração

Considerando a evolução da avicultura de postura, a produção de aminoácidos industriais em larga escala e a importância da metionina como primeiro aminoácido limitante nas dietas à base de milho e farelo de soja, pesquisas acerca das exigências e as implicações de sua inclusão nas dietas de galinhas poedeiras são continuamente necessários. Estudos com base nas exigências de metionina + cisteína digestível e seus efeitos no desempenho produtivo de galinhas poedeiras foram demonstrados por diversos autores (Harms & Russel, 2003; Koreleski & Świątkiewicz, 2009; Brumano et al., 2010; Bregendahl et al., 2008; Alagawany & Mahrose, 2014; Bendezu et al., 2015; Carvalho et al., 2018; Gomes & Angeles, 2016; Kakhki et al., 2016). Dentre todos os trabalhos citados, apenas um utilizou a técnica da diluição para a formulação dos níveis experimentais de metionina + cisteína (Bendezu et al., 2015) para galinhas poedeiras, os demais utilizaram a técnica da suplementação dietética.

A técnica da suplementação consiste na formulação de uma dieta basal que atende todas as exigências nutricionais do animal, exceto no aminoácido teste, que é suplementado gradualmente nas dietas em sua forma cristalina (D'Mello, 1982). A técnica da diluição, consiste na formulação de duas dietas, uma isenta em proteína e outra com alta concentração proteica. Os níveis a serem estabelecidos são obtidos por diluições planejadas, utilizando diferentes proporções destas duas dietas (Fisher & Morris, 1970).

Apesar das técnicas serem utilizadas para o mesmo objetivo, estas técnicas diferem em diversos aspectos. Gous & Morris (1985) criticaram a técnica da suplementação a alteração sistemática no balanço aminoacídico das dietas, que poderia interferir nas respostas obtidas. Ainda segundo os autores, os altos níveis de suplementação poderiam fazer com que o aminoácido teste não fosse o primeiro limitante, surgindo outros aminoácidos como limitantes. Esta suposição foi corroborada por Siqueira et al. (2013), que utilizou as duas técnicas para estimar as exigências de lisina para frangos em crescimento, neste caso, a deposição proteica foi limitada nos animais submetidos a técnica da suplementação, provavelmente pela limitação em glicina + serina imposta pela metodologia. A suplementação das dietas, pela grande quantidade de aminoácidos cristalinos utilizados, também é criticada pelo alto custo das dietas, o que dificultaria a execução de novos estudos (Gous & Morris, 1985).

A técnica da diluição fornece os níveis do aminoácido teste de acordo com a proporção das dietas diluídas entre si. A mistura resultante apresentará todos os aminoácidos em excesso, exceto pelo aminoácido teste, desta forma, todas as dietas apresentarão um balanço aminoacídico similar (Gous & Morris, 1985). D'Mello (1982) aponta que apesar da similaridade entre as dietas, é possível afirmar que existe um desbalanço aminoacídico assim como na técnica da suplementação. Segundo o mesmo autor, a diluição não é recomendada em estudos com aminoácidos que interagem, onde o excesso de um pode interferir na resposta frente a limitação do outro.

Além da análise zootécnica e econômica acerca da utilização de cada uma das técnicas (D'Mello, 1982; Gous & Morris, 1985; Siqueira et al., 2013), é necessária a compreensão dos efeitos fisiológicos decorrentes das características destes métodos. Dados laboratoriais, obtidos através de exames bioquímicos e histológicos, são alternativas para a avaliação do status fisiológico, metabólico e nutricional de galinhas poedeiras.

Marcadores do metabolismo proteico

O controle das concentrações plasmáticas de aminoácidos ocorre em diferentes órgãos. De acordo com Cynober (2002), as concentrações plasmáticas dos aminoácidos são resultadas do balanço entre a entrada e saída de aminoácidos no

plasma. A entrada ocorre pela ingestão e pela mobilização dos aminoácidos nos tecidos, especialmente os músculos. A saída é resultado da oxidação, metabolismo, incorporação dos aminoácidos nas proteínas e em menor quantidade, das perdas nos produtos da excreção.

Broer & Broer (2017) relataram que dietas deficientes em proteínas levam a mudanças nos níveis de aminoácidos livres e quando ingeridas por períodos longos, reduzem as concentrações de aminoácidos essenciais, aumentando as concentrações de aminoácidos não essenciais no plasma e nos músculos. Segundo o autor, os níveis de transaminases também são alterados, resultando na redução da transaminação dos aminoácidos.

O excesso de proteína nas aves também tem sido associado a sinais clínicos como perda de peso ou ganho de peso reduzido, ocorrência de gota úrica, desvio lateral dos metacarpos, deformidades ósseas, alterações de comportamento e até mesmo morte (Tully et al., 2000). De acordo com Harper et al. (1970), estudos comparando a toxicidade relativa dos aminoácidos, apontou a metionina como a mais tóxica, além disso investigações sobre o consumo em excesso de cisteína ocasionou danos importantes no fígado e nos rins.

O fígado é o principal órgão atuante no metabolismo do nitrogênio. A primeira etapa da degradação dos aminoácidos, envolve uma reação de transaminação (D'Mello, 2003), nesta reação, enzimas chamadas transaminases ou aminotransferases, catalisam a transferência de um grupamento amino de um aminoácido para um cetoácido (Barbosa et al., 2010). Estas enzimas podem ser utilizadas para avaliação da função hepática em aves e a alteração nas suas concentrações plasmáticas podem ser resultado tanto de lesões hepatocelulares quanto do aumento na produção enzimática (Campbell, 2015).

A aspartato aminotransferase (AST), possui alta atividade no fígado, no músculo esquelético e cardíaco, cérebro e rins das aves (Schimdt et al., 2007). Aumentos nos níveis plasmáticos desta enzima indicam lesão hepática ou muscular (Campbell, 2015), a diferença entre essas lesões pode ser feita com a análise conjunta da creatina quinase (CK) (Schimdt et al., 2007), enzima músculo – específica (Harr, 2002). Segundo Gonçalves et al. (2010), quando o sistema hepático é altamente exigido, pode ocorrer lise dos hepatócitos, levando ao extravasamento de enzimas citosólicas como

a AST, aumentando seus níveis plasmáticos. A alanina aminotransferase (ALT) é encontrada em diversos órgãos, principalmente o fígado. Esta enzima pode ser utilizada como indicativo de funcionalidade hepática, aumentando suas concentrações no soro em situações de perda celular (Ogunbode & Iyayi, 2021).

Os níveis de proteínas circulantes no sangue também são utilizados para avaliar e compreender o metabolismo das proteínas. Em concentrações normais, o nível de proteína total garante a manutenção da pressão osmótica coloidal, e conseqüentemente o pH e o volume sanguíneo (Campbell, 2015). A albumina compõe de 40 a 50% da proteína total, é sintetizada no fígado juntamente com proteínas de transporte, de coagulação, fibrinogênio e enzimas (Campbell, 2015). Outra fração importante que compõe as proteínas plasmáticas são as globulinas (Tully et al., 2000), produzidas pelos linfócitos B e plasmócitos (Campbell, 2015).

A degradação dos aminoácidos, que ocorre em sua maior parte no fígado, resulta na formação de amônia. Devido a sua toxicidade é convertida em ácido úrico, principal via de eliminação de nitrogênio nas aves, e posteriormente excretada pelos rins (D'Mello, 2003). Desta forma, é provável que os níveis plasmáticos de ácido úrico podem ser influenciados pelo conteúdo proteico das dietas em aves.

Referências

ALAGAWANY, M. & MAHROSE, M. Influence of different levels of certain essential amino acids on the performance, egg quality criteria and economics of Lohmann brown laying hens. **Asian Journal of Poultry Science**, v.8, n.4, p. 82 – 96, 2014.

BARBOSA, A. A.; MULLER, E. S.; MORAES, G. H. K. et al. Perfil da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase e biometria do fígado de codornas japonesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 2, p. 308 - 312, 2010.

BENDEZU, H. C. P.; SAKOMURA, N. K.; HAUSCHILD, L. et al. Response of laying hens to methionine + cystine intake by dilution technique. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 44, n. 1, p. 15–21.

BESKI, S. S. M; SWICK, R. A; IJI, P. A. Specialized protein products in broiler chicken nutrition: a review. **Animal nutrition**, v. 1, n. 2, p. 47 - 53, 2015.

BREGENDAHL, K.; ROBERTS, S. A.; KERR, B. et al. Ideal Ratios of isoleucine, methionine, methionine plus cystine, threonine, tryptophan, and valine relative to lysine for white leghorn-type laying hens of twenty-eight to thirty-four weeks of age. **Poultry Science**, v.87, n.4, p. 744 -758, 2008.

BROER, S. & BROER, A. Amino acid homeostasis and signaling in mammalian cells and organisms. **Biochemical Journal**, v. 474, n. 12, p. 1935 - 1963, 2017.

BROSNAN, J. T. & BROSNAN, M. E. The sulfur-containing amino acids: an overview. **The Journal of Nutrition**, v. 136, n. 6, p. 1636 – 1640, 2006.

BROSNAN, J. T.; JACOBS, R. L.; STEAD, L. M; BROSNAN, M. E. Methylation demand: a key determinant of homocysteine metabolism. **Acta Biochimica Polonica**, v. 51, n. 2, p. 405 – 413, 2004.

BRUMANO, G.; GOMES, P. C.; DONZELE, J. L. et al. Níveis de metionina + cistina digestível em rações para poedeiras leves no período de 24 a 40 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.6, p.1228-1236, 2010.

BUNCHASAK, C. Role of dietary methionine in poultry production. **Japan Poultry Science Association**, v. 46, p. 114- 119, 2009.

BYDLOWSKI, S. P.; MAGNANELLI, A. C. & CHAMONE, F. A. D. Hiper-homocisteinemia e Doenças Vaso-Oclusivas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.71, n.1, p. 69 – 76, 1998.

CAMPBELL, T. W. Bioquímica Clínica das Aves. In: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R.W.; CAMPBELL, T.W. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. [S. l.]: Roca, 2015. cap. 35, p. 508 -535. ISBN 978-0-8183-1027-0.

CARVALHO, T. S. M.; SOUSA, L. S.; NOGUEIRA, F. A. et al. Digestible methionine+cysteine in the diet of commercial layers and its influence on the performance, quality, and amino acid profile of eggs and economic evaluation. **Poultry Science**, v. 97, n. 6, p. 2044 – 2052, 2018.

CASTRO, F. L. S. & KIM, W. K. Secondary Functions of Arginine and Sulfur Amino Acids in Poultry Health: Review. **Animals**, v. 10, n. 11, 2020.

CYNOBER, L. A. Plasma amino acid levels with a note on membrane transport: characteristics, regulation, and metabolic significance. **Nutrition**, v.18, n. 9, p. 761 – 766, 2002.

D'MELLO, J. P. F. A comparison of two empirical methods of determining amino acid requirements. **World's Poultry Science Journal**, v. 38, n. 2, p. 114 - 119, 1982.

D'MELLO, J. P. F. Amino Acids in Animal Nutrition. 2. ed. CABI Publishing, 2003. ISBN 0-85199-654-X.

FISHER, C. & MORRIS, T. R. The determination of the methionine requirement of laying pullets by a diet dilution technique. **British Poultry Science**, v. 11, n. 1, p. 67-82, 1970.

GOMEZ, R. S. & ANGELES, M. L. Requirement of digestible sulfur amino acids in laying hens fed sorghum- and soybean meal-based diets. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.18, n.2, p. 231–238, 2016.

GONÇALVES, F. M.; RIBEIRO, E. M.; MONTAGNER, P. et al. Níveis séricos de enzimas hepáticas em poedeiras comerciais no pré-pi e pico de produção de ovos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 38, n. 3, p. 311- 314, 2010.

GOUS, R. M. & MORRIS, T. R. Evaluation of a diet dilution technique for measuring the response of broiler chickens to increasing concentrations of lysine. **British Poultry Science**, v. 26, n. 2, p. 147 – 161, 1985.

HARMS, R. H. & RUSSEL, G. B. Performance of commercial laying hens fed diets with various levels of methionine. **Journal of Applied Poultry Research**, v.12, p. 449 – 455, 2003.

HARPER, A. E., BENEVENGA, N. J. & WOHLHUETER, R. M. Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. **Physiological Reviews**, v. 50, n. 3, p. 428 – 558, 1970.

HARR, K. E. Clinical chemistry of companion avian species: a review. **Veterinary Clinical Pathology**, v.31, n.3, p. 141 – 150, 2002.

KAKHI, R. A. M.; GOLIAN, A. & ZARGHI, H. Effect of digestible methionine + cystine concentration on performance, egg quality and blood metabolites in laying hens. **British Poultry Science**, v.57, n.3, p.403 – 414, 2016.

KORELESKI, J. & ŚWIĄTKIEWICZ, S. Laying performance and nitrogen balance in hens fed organic diets with different energy and methionine levels. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.18, p.305 – 312, 2009.

MARTÍNEZ, Y.; LI, X.; LIU, G. et al. The role of methionine on metabolism, oxidative stress, and diseases. **Amino Acids**, v. 49, n. 12, p. 2091–2098, 2017.

NELSON, D. L. & COX, M. M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. 6ª Edição, 2014. Ed. Artmed.

OGUNBODE, S. M. & IYAYI, E. A. Biochemical effects of low crude protein diets supplemented with varying methionine concentrations. **Jordan Journal of Biological Sciences**, v. 14, n. 2, 2021.

SCHMIDT, E. M. S.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SANTINI, E. et al. Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola- Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, n. 3, p. 9 – 20, 2007.

SIQUEIRA, J. C.; SAKOMURA, N. K & DOURADO, L. R. B. et al. Diet formulation techniques and lysine requirements of 1- to 22-day-old broilers. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 15, n. 2, p. 123 – 134, 2013.

STIPANUK, MARTHA H. Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine. **Annual Review of Nutrition**, v.24, n.1, p. 539–577, 2004.

SWELUM, A. A.; EL-SAADONY, M. T.; ABD EL-HACK, M. E., et al. Ammonia emissions in poultry houses and microbial nitrification as a promising reduction strategy. **Science of The Total Environment**, v. 781, n. 14, p. 69 – 78, 2021.

TULLY, T. N.; LAWTON, M. P. C. & GERRY, D. Avian medicine. 2ª edição, 2000. Ed. Saunders.

WALDROUP, P. W. & HELLWIG, H. M. Methionine and total sulfur amino acid requirements influenced by stage of production. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 4, p. 283 – 292, 1995.

WALLIS, I. R. Dietary supplements of methionine increase breast meat yield and decrease abdominal fat in growing broiler chickens. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 39, n. 2, p. 131– 141, 1999.

WILLIAMS, K. T. & SCHALINSKE, K. L. Homocysteine metabolism and its relation to health and disease. **International Union of Biochemistry and Molecular Biology**, v.36, n.1, p. 19-24, 2010.

CAPÍTULO 2 – Efeito das técnicas de formulação e dos níveis de metionina + cistina sobre a resposta de poedeiras comerciais

Resumo – Esta pesquisa avaliou as respostas fisiológicas de poedeiras comerciais submetidas a níveis de metionina + cisteína na dieta formulados pelas técnicas da diluição e suplementação. O delineamento utilizado foi o inteiramente ao acaso, com 160 aves em pico postura da linhagem Hy-line Brown, com 15 tratamentos e um grupo controle, contendo 10 repetições de uma ave cada. Os tratamentos foram em arranjo fatorial, sendo sete níveis de Met + Cis obtidos pela técnica da diluição e sete níveis de Met + Cis obtidos pela técnica da suplementação. Os níveis de Met + Cis estabelecidos foram 0.415%, 0.447%, 0.593%, 0.601%, 0.663% 0.725% e 0.806% de metionina + cistina digestível (Met + Cis), para ambas as técnicas. O experimento teve duração de 10 semanas, sendo 6 de adaptação e 4 de coleta de dados. As variáveis de desempenho zootécnico coletadas foram: consumo de ração, produção de ovos e peso do ovo. As variáveis bioquímicas foram: aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, proteína total, albumina, e ácido úrico. Os fígados foram submetidos à análise morfológica. O desempenho foi afetado pelo nível de Met + Cis nas dietas, somente o peso do ovo foi afetado pela técnica utilizada. Peso corporal, peso do fígado e número de hepatócitos apresentaram efeito para os níveis de Met + Cis, somente peso do fígado e peso relativo do fígado foram afetados pelas técnicas de formulação. Todas as variáveis bioquímicas foram afetadas pelos níveis de Met + Cis e somente o ácido úrico apresentou efeito para a técnica. As técnicas de formulação afetaram o desempenho e as respostas fisiológicas das aves.

Palavras-chave: diluição, metionina, postura comercial, saúde hepática, suplementação

Introdução

Dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), apontam que em 2019 a produção mundial de ovos foi de 83 milhões de toneladas, sendo os países das Américas responsáveis por 21% deste total. Em 2021, de acordo com a Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA), o Brasil produziu 54 milhões de unidades de ovos, obtendo como valor bruto da produção 17,7 bilhões de reais, destacando a importância da avicultura de postura para a economia do país.

Avanços na nutrição, juntamente com a genética, foram cruciais para a evolução da avicultura industrial. Os nutricionistas buscam otimizar o desempenho dos animais, ajustando as dietas de modo a evitar a falta ou excesso de determinado nutriente, especialmente a proteína e os aminoácidos dietéticos (Alagawany et al., 2016). Segundo Al-Saffar & Rose (2002), o desbalanço de um aminoácido essencial pode prejudicar a eficiência econômica em um sistema de produção de ovos. Afirmaram também que os aminoácidos limitantes possuem o maior valor por unidade de peso comparado a todos os outros nutrientes fornecidos em uma ração para aves.

A reavaliação das exigências nutricionais para aminoácidos em aves devem ser continuamente estudadas, especialmente em relação aos aminoácidos essenciais. A metionina, é o primeiro aminoácido limitante nas dietas de aves à base de milho e farelo de soja. Há uma grande contribuição deste para a formação das penas, síntese proteica e em diversas vias metabólicas (Bunchasak, 2009), além de ser precursora de outro aminoácido essencial, a cisteína.

Na avicultura, compreender as exigências e a importância metabólica dos aminoácidos presentes nos ingredientes é essencial para o desenvolvimento de dietas precisas, com maximização do desempenho e redução nos custos de produção. Além disso, os efeitos fisiológicos dos níveis de proteínas e aminoácidos nas dietas devem ser considerados, podendo impactar diretamente a saúde das aves e consequentemente seu desempenho.

Considerando o exposto, o desenvolvimento da nutrição é necessário para a obtenção de informações mais precisas acerca dos requerimentos de galinhas poedeiras, reduzindo os custos de produção e reduzindo a eliminação de nitrogênio no ambiente.

Material e Métodos

Aprovação do Comitê de Ética

Os procedimentos experimentais realizados neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA (protocolo nº 502/22), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista – UNESP – Campus de Jaboticabal.

Aves, instalação e delineamento experimental

160 galinhas de postura Hy-Line Brown, com 37 semanas de idade, produção de ovos $97\pm 4,5\%$ e peso corporal médio de $1,741\pm 117$ g foram utilizadas. As aves foram alojadas em um galpão californiano, em gaiolas individuais com comedouros tipo calha e bebedouros *nipple*. Água e ração foram fornecidas à vontade, o programa de luz consistiu em 17 horas de luz e 7h de escuro.

O delineamento foi inteiramente ao acaso, com 15 tratamentos e um grupo controle, com 10 repetições de uma ave cada, totalizando 160 unidades experimentais. Oito tratamentos corresponderam as dietas formuladas pela técnica da diluição e sete pela técnica da suplementação. O grupo controle, recebeu uma dieta de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2017) e o manual da linhagem.

Dietas experimentais

Um total de 15 dietas experimentais foram formuladas, sendo oito pelo método da diluição (Tabela 2) e sete pelo método da suplementação dietética (Tabela 3). Foram utilizados milho, óleo de soja, farelo de soja, calcário calcítico, sal, fosfato bicálcico e aminoácidos industriais para atender os níveis nutricionais dos aminoácidos essenciais, proteína bruta, energia, vitaminas e minerais das dietas, preconizados por Rostagno et al. (2017).

Técnica da diluição

Seguindo as recomendações de Fisher & Morris (1970), duas rações foram formuladas para estabelecer os níveis de metionina + cistina digestíveis. Foi formulada uma ração, D7, para atender todas as exigências de energia e demais nutrientes. A segunda ração, D0, foi formulada para não conter proteína (Tabela 2). A determinação dos demais tratamentos foi feita pela diluição entre as dietas D7 e D0 (Tabela 1).

Os tratamentos consistiram em sete níveis de metionina + cistina digestível mais uma dieta controle. Os níveis experimentais foram D1: 0,415%; D2: 0,447%, D3: 0,539%, D4: 0,601%, D5: 0,663%, D6: 0,725% e D7: 0,806% de metionina + cistina digestível. A oitava dieta (D8), foi obtida pela adição de L- metionina no primeiro nível, acrescentando a quantidade exata do aminoácido na forma cristalina até atingir o valor do segundo nível e foi utilizada como para comprovar que a metionina + cistina é o primeiro aminoácido limitante na série de diluições.

Tabela 1. Proporções entre a ração concentrada e isenta de proteína

Itens	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8¹
Ração concentrada "D7" (%)	51.4	55.3	66.8	74.5	82.2	89.9	100.0	51.4
Ração isenta de proteína "D0" (%)	48.5	44.6	33.1	25.4	17.7	10.0	0.00	48.5
Metionina + Cistina na dieta (%)	0.415	0.447	0.539	0.601	0.663	0.725	0.806	0.447
PB na dieta (%)	9.68	10.41	12.58	14.03	15.47	16.92	18.81	9.68

¹Dieta controle, obtida com a suplementação adicional da metionina na ração N1

Tabela 2. Composição e níveis nutricionais das dietas experimentais

Ingredientes	D0	D7
Milho	0.00	565.31
Farelo de soja 46%	0.00	287.73
Amido	349.00	0.00
Açúcar	250.00	0.00
Óleo de soja	75.20	27.80
Fosfato bicálcico	16.00	10.90
Calcário calcítico	91.54	91.78
Cloreto de sódio	2.75	2.46
Bicarbonato de sódio	2.25	2.25
Cloreto de potássio	10.51	0.00
L-Met 100	0.00	3.19
L-Lisina 79	0.00	2.40
L-Treonina 98	0.00	1.43
L-Triptofano 98.5	0.00	0.27
L-Valina 98.5	0.00	1.48
L-Isoleucina 90	0.00	1.40
Cloreto de colina 60 %	3.03	0.50
Inerte	98.68	0.00
Premix vitamínico e mineral ^a	1.00	1.00
Lignocelulose	100.00	0.00
Total	1000.00	1000.00
Concentração dos nutrientes	Calculado	Calculado
EM ^b , Kcal/kg	2850.00	2850.00
Proteína bruta, %	0.00	18.82
Fibra bruta, %	6.50	2.83
Lisina, %	0.00	1.02
Metionina, %	0.00	0.56
Metionina+Cistina, %	0.00	0.80
Treonina, %	0.00	0.71
Triptofano, %	0.00	0.21
Valina, %	0.00	0.89
Isoleucina, %	0.00	0.81
Glicina + Serina, %	0.00	1.42
Potássio, %	0.55	0.70
Sódio, g/kg	0.17	0.17
Cálcio, g/kg	3.90	3.90
Fósforo disponível, %	0.30	0.49
Colina, %	1332.74	1332.74
Ácido linoleico, %	3.95	2.79

^aConteúdo por quilograma de produto: vit A - 7.500.000 IU; vit D3 – 2.500.000 IU; vit E - 5.500 IU; vit K – 1.500 mg; vit B1- 1.000 mg, vit B2- 3.000 mg; vit B6 - 500 mg; vit B1 – 8.000 mcg; niacina – 18 mg; pantothenate acid – 5.000 mg; copper - 10 mg; iron - 55 g; manganese - 70 g; zinc - 50 g; iodine, 1.000 mg; selenium 300 mg and folic acid – 200,00 mg.

^bEM: Energia metabolizável.

Suplementação

Inicialmente, foi formulada uma dieta basal (S1) para atender as exigências nutricionais de energia metabolizável, minerais, vitaminas, proteína, aminoácidos essenciais, porém atendendo somente 30% da exigência de metionina + cistina na dieta. Os demais tratamentos, com a suplementação do aminoácido sintético L-metionina, foram formulados para se obter os níveis S2: 0,447% S3: 0,539%, S4: 0,601%, S5: 0,663 %, S6: 0,725% e S7: 0,806% de metionina + cistina digestível. As composições utilizadas estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Composição dos tratamentos experimentais formulados pela técnica da suplementação

Ingredientes	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
Milho	673.65	673.65	673.65	673.65	673.65	673.65	673.65
Farelo de soja 46%	182.76	182.76	182.76	182.76	182.76	182.76	182.76
Óleo de soja	9.79	9.69	9.39	9.19	8.98	8.77	8.50
Fosfato bicálcico	11.80	11.80	11.80	11.80	11.80	11.80	11.80
Calcário calcítico	92.00	92.00	92.00	92.00	92.00	92.00	92.00
Cloreto de sódio	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Bicarbonato de sódio	2.23	2.23	2.23	2.23	2.23	2.23	2.23
L- Met 100	0.00	0.32	1.25	1.88	2.50	3.13	3.95
L- Lisina 79	1.95	1.95	1.95	1.95	1.95	1.95	1.95
L- Treonina 98	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79
L- Triptofano 98.5	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22
L- Valina 98.5	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65
L- Isoleucina 90	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
L- Glutâmico 98	9.03	9.03	8.84	8.71	8.59	8.43	8.23
L- Alanina 99	10.11	9.88	9.45	9.15	8.85	8.60	8.25
Cloreto de colina 60 %	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Premix ^a	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Total	1000.0	1000.0	1000.00	1000.00	1000.00	1000.00	1000.00
Composição							
EM, Kcal/kg	2850.0	2850.0	2850.0	2850.0	2850.0	2850.0	2850.0
Proteína bruta, %	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00
Lisina, %	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74	0.74
Metionina, %	0.20	0.24	0.33	0.39	0.45	0.51	0.59
Metionina+cistina, %	0.41	0.44	0.53	0.60	0.66	0.72	0.80
Treonina, %	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52
Triptofano, %	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
Valina, %	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65
Isoleucina, %	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60
Glicina + Serina, %	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10	1.10
Potássio, %	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
Sódio, g/kg	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17
Cálcio, g/kg	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90
Fósforo disponível, %	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Colina, %	1129.6	1129.6	1129.6	1129.6	1129.6	1129.6	1129.6
Ácido linoleico, %	1.95	1.95	1.93	1.92	1.91	1.90	1.89

^aConteúdo por quilograma de produto: vit A - 7.500.000 IU; vit D3 - 2.500.000 IU; vit E - 5.500 IU; vit K - 1.500 mg; vit B1- 1.000 mg, vit B2- 3.000 mg; vit B6 - 500 mg; vit B12 - 8.000 mcg; niacina - 18 mg; pantothenate acid - 5.000 mg; copper - 10 mg; iron - 55 g; manganese - 70 g; zinc - 50 g; iodine, 1.000 mg; selenium 300 mg and folic acid - 200,00 mg.

^bEM: Energia metabolizável.

Variáveis coletadas e analisadas

Desempenho

O experimento foi realizado durante 10 semanas, dentre 36 e 46 semanas de idade das aves, seis de adaptação e quatro de coleta de dados. Diariamente foram registradas a temperatura ambiente, mortalidade e produção de ovos (PR). O peso dos ovos (PO) foi mensurado três dias consecutivos a cada semana. Estes dados foram utilizados para calcular a massa de ovos (MO). Ao final de cada semana foi avaliado o consumo de ração (CR) e o valor obtido foi utilizado para calcular a conversão alimentar por massa de ovos (CA).

Bioquímica sanguínea

As coletas de sangue foram realizadas na quinta e na décima semana de experimento. As aves foram submetidas ao jejum sólido de 12 h. Por meio da punção da veia ulnar foram coletados 5mL por ave. O sangue foi depositado em um tubo sem anticoagulantes e armazenado em local arejado até a separação do soro. Após isso, o soro foi coletado e depositado em microtúbulos estéreis (*eppendorf*) identificados, em seguida, armazenados em um freezer a -20°C.

Foram mensurados no soro: aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, proteína total, albumina e ácido úrico por meio de kits comerciais usando analisador bioquímico automático Labmax Plenno, calibrado de acordo com as recomendações do fabricante.

Análise morfológica do fígado

Ao final do experimento, três aves de cada tratamento foram selecionadas de acordo com o peso corporal do grupo, para avaliação das características histológicas do fígado. O peso do fígado foi obtido em balança com precisão de 0,001 g para a determinação do peso absoluto (PA) e relativo (PR) do órgão através da equação: $PR = (PA/PV) \times 100$.

Os fígados foram processados para a fabricação de lâminas histológicas, coradas segundo a técnica de Hematoxilina e Eosina – HE. As lâminas, foram analisadas em microscópio de luz, para determinação da espessura da cápsula hepática, número e área de hepatócitos em 2000 μm^2 .

Análises estatísticas

Para interpretação dos resultados, os dados foram submetidos à uma análise fatorial 2 x 7, considerando duas técnicas de formulação de dietas e sete níveis experimentais de metionina + cistina. O tratamento controle da técnica da diluição (D8) não foi considerado para as análises estatísticas. Além disso, os dados obtidos da histologia hepática também foram submetidos à análise de contrastes, a fim de comparar os tratamentos com o grupo controle.

As análises estatísticas foram realizadas por meio do sistema computacional SAS (Statistical Analysis System 2010, versão 9.2).

Resultados e discussão

Desempenho

O desempenho de galinhas poedeiras de 43 a 46 semanas de idade, submetidas à diferentes níveis de Met + Cis formuladas por duas técnicas, é apresentado na Tabela 4. Todas as variáveis avaliadas foram afetadas pelos níveis de Met + Cis, somente a variável peso do ovo apresentou efeito para a técnica utilizada.

Tabela 4. Desempenho de galinhas poedeiras de 43 a 46 semanas de idade submetidas à diferentes níveis de metionina + cistina.

Níveis	CR(g/ave/d)		PR (%)		PO (g)		MO(g)		CA(g/g)	
	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S
0,415	71,9	59,6	40,4	32,5	58,9	53,6	23,3	17,6	3,4	3,5
0,447	71,6	67,8	44,2	40,3	58,3	53,4	25,8	21,7	3,0	3,7
0,539	86,8	88,1	63,4	72,4	60,7	58,1	38,5	42,1	2,2	2,1
0,601	87,6	85,7	68,9	75,0	59,9	59,8	41,4	45,0	2,1	1,9
0,663	89,6	94,6	82,8	82,4	59,7	59,9	49,8	49,4	1,8	1,9
0,725	92,2	92,3	86,7	84,9	59,1	58,4	51,2	49,6	1,8	1,8
0,806	90,2	89,8	81,7	81,0	59,8	59,9	48,7	48,7	1,9	1,8
Média	84,3	82,6	66,9	66,9	59,5	57,6	39,8	39,2	2,3	2,4
Erro	7,2	10,8	15,0	17,4	0,6	2,3	9,1	11,1	0,5	0,7
<i>p-valor</i>										
MetCys	<0.0001		<0.0001		0.0037		<0.0001		<0.0001	
Técnica	0.4513		0.9866		0.0079		0.6860		0.4852	

CR: consumo de ração; PR: produção de ovos; PO: peso do ovo; MO: massa de ovo; CA: conversão alimentar por massa de ovos.

O consumo médio de ração, para ambas as técnicas, foi de 83,4 g/ave/dia. O maior consumo foi registrado no tratamento S5 (0,663% de Met + Cys). O menor consumo de ração foi de 59,6 g/ave/dia, observado nos animais submetidos à dieta S1 (0,415 % de Met + Cys), seguido pela dieta D2 (0,447% de Met + Cys), correspondendo a 71,6 g/ave/dia.

À medida em que se aumentou os níveis de Met + Cis nas dietas, o consumo de ração também aumentou. Bendezu et al. (2015), relatou comportamento semelhante, segundo o autor, a redução no consumo nos níveis deficientes em Met + Cis pode ser atribuída a relação entre energia e proteína. A fim de evitar o excesso de energia para produção de ovos, causado pelo consumo de uma dieta deficiente em Met + Cis, a ave reduz a ingestão de ração.

A produção de ovos obtida neste trabalho diminuiu à medida em que as dietas se tornaram mais deficientes em metionina + cistina digestível e com o aumento da concentração houve também um aumento na produção ovos. Harms & Russel (2003), observaram um aumento na produção de ovos à medida em que se aumentou a concentração de metionina nas dietas, até o nível de 0,30%. Bendezu et al. (2015), em galinhas de 41 a 44 semanas de idade, observaram menor índice de produção de ovos nos níveis mais baixos de metionina + cistina (0,275% e 0,137% na dieta). Assim como apresentado, outros estudos demonstraram que diferentes níveis de Met + Cis afetam a produção de ovos, é provável que isso se deve devido a alterações no consumo alimentar associado à deficiência proteica estabelecida nas dietas.

A variável peso do ovo foi a única variável influenciada tanto pelo nível de Met + Cis quanto pela técnica utilizada ($p < 0.05$), ambas as técnicas apresentaram resultados semelhantes. A técnica da suplementação apresentou maior variabilidade, o desvio padrão calculado na técnica da diluição foi de 0,6, enquanto que na suplementação foi de 2,3. Neste trabalho, o maior peso do ovo foi registrado no nível de 0,663% de Met + Cis, para a técnica da suplementação, nível que se aproxima da recomendação dada pelo manual da linhagem, 0,660% de Met + Cis. Desta forma, com o fornecimento adequado destes aminoácidos, as aves foram capazes de produzir ovos com melhor peso.

A maior massa de ovo foi obtida no tratamento D6 (0,725% de Met + Cis) da técnica da diluição, 51,2 g, este valor foi superior ao máximo obtido pela técnica da

suplementação com o mesmo nível de metionina + cistina digestível (49,6 g no tratamento S6). A menor massa de ovo, para as duas técnicas, foi registrada nas dietas com 0,415 % de metionina + cistina. A massa de ovo seguiu a mesma tendência das variáveis peso do ovo e produção de ovos, efeito esperado, considerando que esta variável é calculada a partir das outras duas.

A conversão alimentar das aves foi pior nos tratamentos D1 e S2, contendo os dois menores níveis de metionina + cistina. Considerando o efeito esperado no consumo alimentar e a redução na produção de ovos, nos níveis de menor concentração de Met + Cis é justificável a piora na conversão alimentar.

Análise morfológica do fígado

O peso corporal, peso do fígado e o número de hepatócitos apresentaram efeito de acordo com os níveis de Met + Cis nas dietas. Para efeitos de técnica, as variáveis peso do fígado e peso relativo do fígado foram afetadas (Tabela 5).

Tabela 5. Respostas para peso corporal, peso de fígado, peso relativo de fígado, número de hepatócitos e espessura de cápsula de galinhas poedeiras submetidas à níveis de metionina + cistina.

Níveis	PC (kg)		PF (g)		PRF (%)		NH		EC (µm)	
	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S
0,415	1,38	1,35	29,74	32,88	2,13	2,43	24,33	23,60	4,42	4,24
0,447	1,39	1,45	30,46	38,29	2,16	2,63	20,66	19,60	4,41	4,25
0,539	1,51	1,59	37,73	41,63	2,50	2,63	23,00	21,00	4,52	3,85
0,601	1,54	1,59	36,43	38,17	2,36	2,40	21,00	22,33	4,23	4,44
0,663	1,65	1,61	38,87	46,37	2,36	2,86	19,00	20,60	4,38	4,30
0,725	1,52	1,50	33,96	39,79	2,23	2,63	20,66	20,00	3,76	4,44
0,806	1,64	1,62	37,48	39,58	2,30	2,43	20,00	17,66	4,28	4,73
Média	1,51	1,53	34,95	39,53	2,29	2,57	21,24	20,68	4,29	4,32
Erro	0,07	0,08	3,05	2,64	0,10	0,13	1,38	1,39	0,17	0,18
<i>p-valor</i>										
Met+Cis	0,0002		0,0161		0,4440		0,0059		0,7922	
Técnica	0,7303		0,0062		0,0034		0,4349		0,7927	

D: técnica da diluição; S: técnica da suplementação; PC: peso corporal; PF: peso do fígado; PRF: peso relativo do fígado; NH: número de hepatócitos; EC: espessura de cápsula.

As médias obtidas foram de 1,51 kg para as aves submetidas a dietas formuladas pela técnica da diluição e 1,53 kg para as aves submetidas a dietas formuladas pela técnica da suplementação. Os menores níveis de Met + Cis, apresentaram menor peso corporal final, devido à redução no consumo de ração discutida anteriormente.

O peso do fígado apresentou média de 34,95g para a técnica da diluição e 39,53g para a técnica da suplementação. Os maiores valores para esta variável foram obtidos para o nível de 0,663% de Met + Cis na dieta, nas duas técnicas de formulação testadas que correspondem aos tratamentos S5 e D5. Os menores valores foram registrados no menor nível de Met + Cis para ambas as técnicas (0,415%).

O maior peso relativo para a técnica da diluição foi de 2,50%, no tratamento D3 (0,539% de Met + Cis), para a técnica da suplementação foi de 2,86% no tratamento S5 (0,663% de Met + Cis). Os tratamentos que apresentaram menor peso relativo foram D1 (0,415% de Met + Cis) e S4 (0,601% de Met + Cis), correspondendo a 2,13% e 240%, respectivamente.

O PF e o PRF, foram numericamente maiores nos tratamentos estabelecidos pela técnica da suplementação. Apesar dos níveis de Met + Cis serem semelhantes entre as técnicas, a relação aminoacídica nos tratamentos estabelecidos pela diluição é constante, enquanto que na suplementação esta relação é modificada, justificando o aumento no peso do fígado.

Bavasardi et al. (2021) encontraram que a redução dos níveis de proteína bruta nas dietas aumenta significativamente o peso relativo do fígado em galinhas poedeiras, fato atribuído ao acúmulo de gordura no órgão. Neste trabalho, entre as técnicas, as dietas possuíam concentrações proteicas próximas e nos tratamentos com maior concentração de metionina + cistina, o excesso destes aminoácidos sulfurados poderia evitar o acúmulo de gordura no órgão, desta forma, atribui-se a variação no PRF as diferentes demandas metabólicas do fígado, de acordo com a técnica utilizada.

Tabela 5. Respostas para peso corporal, peso de fígado, peso relativo de fígado, número de hepatócitos e espessura de cápsula de galinhas poedeiras submetidas à níveis de metionina + cistina.

Níveis	PC (kg)		PF (g)		PRF (%)		NH		EC (µm)	
	D	S	D	S	D	S	D	S	D	S
0,415	1,38	1,35	29,74	32,88	2,13	2,43	24,33	23,60	4,42	4,24
0,447	1,39	1,45	30,46	38,29	2,16	2,63	20,66	19,60	4,41	4,25
0,539	1,51	1,59	37,73	41,63	2,50	2,63	23,00	21,00	4,52	3,85
0,601	1,54	1,59	36,43	38,17	2,36	2,40	21,00	22,33	4,23	4,44
0,663	1,65	1,61	38,87	46,37	2,36	2,86	19,00	20,60	4,38	4,30
0,725	1,52	1,50	33,96	39,79	2,23	2,63	20,66	20,00	3,76	4,44
0,806	1,64	1,62	37,48	39,58	2,30	2,43	20,00	17,66	4,28	4,73
Média	1,51	1,53	34,95	39,53	2,29	2,57	21,24	20,68	4,29	4,32
Erro	0,07	0,08	3,05	2,64	0,10	0,13	1,38	1,39	0,17	0,18
<i>p-valor</i>										
Met+Cis	0,0002		0,0161		0,4440		0,0059		0,7922	
Técnica	0,7303		0,0062		0,0034		0,4349		0,7927	

D: técnica da diluição; S: técnica da suplementação; PC: peso corporal; PF: peso do fígado; PRF: peso relativo do fígado; NH: número de hepatócitos; EC: espessura de cápsula.

O número de hepatócitos (NH) apresentou uma diminuição à medida em que se aumentou a concentração de Met + Cis nas dietas, para ambas as técnicas. Na técnica da suplementação, os maiores valores de PRF obtidos, poderiam estar associados à um aumento do NH, porém observou-se que o maior número foi apresentado nos tratamentos com menor concentração de Met + Cis, para ambas as técnicas. É provável que com a redução dos níveis plasmáticos de Met + Cis, houve uma compensação metabólica para a maior captação destes aminoácidos, aumentando o NH no fígado.

Não houve diferença significativa para espessura de cápsula (EC) entre os tratamentos. Apesar dos efeitos no PRF, atribuído a uma maior demanda metabólica, esta alteração não foi suficiente para afetar a integridade dos tecidos, devido à duração do período experimental. Segundo Hiramoto (1988), o fígado, por exercer um papel fundamental na síntese e metabolização de nutrientes, é relativamente resistente a alterações na dieta, garantindo o exercício pleno de suas funções para manutenção da vida.

Foi realizada a comparação entre as técnicas avaliando os tratamentos com maior e menor nível de metionina + cistina e o grupo controle (Tabela 6).

Tabela 6. Comparação dos efeitos das técnicas de formulação sobre as variáveis histológicas de galinhas poedeiras de 43 a 46 semanas de idade

Tratamento	Met+Cis	PC (kg)	PF	PRF (%)	NH	EC (μm)
D1	0,415	1,38	29,74	2,13	24,33	4,42
D7	0,806	1,64	37,48	2,30	20,00	4,28
S1	0,415	1,35	32,88	2,43	23,6	4,24
S7	0,806	1,62	39,58	2,43	17,66	4,73
Controle	0,637	1,47	37,98	2,53	20,66	5,06
<i>p-valor</i>						
D1 X S1		0,7362	0,4509	0,2093	0,7061	0,6347
D7 X S7		0,8179	0,6141	0,5727	0,1928	0,2256
D1 X Controle		0,2514	0,0543	0,0974	0,0448	0,0834
D7 X Controle		0,0502	0,9054	0,3263	0,7061	0,0381
S1 X Controle		0,1416	0,2251	0,6719	0,0970	0,0305
S7 X Controle		0,0806	0,6996	0,6719	0,0970	0,3585

PC: peso corporal; PF: peso do fígado; PRF: peso relativo do fígado; NH: número de hepatócitos; EC: espessura de cápsula;

Os tratamentos D1 e S1, ambos com 0,415% de metionina + cistina, não apresentaram diferença significativa entre as variáveis ($p > 0,05$). Comportamento semelhante foi observado entre os tratamentos D7 e S7, ambos com 0,806% de Met + Cis. Estes resultados apontaram que as técnicas de formulação de dietas atuaram de maneira semelhante no metabolismo hepático.

As comparações entre a técnica da diluição apontaram que a dieta D1 (0,415% de Met + Cis) e grupo controle C (0,637% de Met + Cis), apresentou efeito significativos para PF. Este resultado reafirma a alteração metabólica causada pela dieta deficiente em Met + Cis, onde a atividade hepática foi reduzida, diminuindo o PF em relação ao grupo controle.

Em relação a dieta mais concentrada, D7 (0,806 de Met + Cis), apenas a espessura de cápsula apresentou diferença significativa, é provável que esta variação é decorrente da variabilidade morfológica natural entre os indivíduos, uma vez que nenhuma outra alteração hepática corrobora com este achado. Efeito semelhante foi encontrado entre o grupo S1 e o grupo controle, sendo o único efeito entre a técnica da suplementação e o grupo controle.

Bioquímica sanguínea

As respostas obtidas para as análises bioquímicas de alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, proteína total, albumina e ácido úrico encontram-se na Tabela 7. Todas as variáveis foram afetadas pelos níveis de Met+Cis nas dietas ($p>0,05$) e somente os níveis de ácido úrico (AU) variaram de acordo com a técnica de formulação utilizada ($p<0,05$).

Tabela 7. Parâmetros bioquímicos de galinhas poedeiras de 43 a 46 semanas de idade submetidas à níveis de metionina + cistina.

Técnica	Níveis	Variáveis				
		ALT (U/L)	AST (U/L)	PT (g/dL)	Alb (g/dL)	AU (mg/dL)
D	0,415	9,3	161,0	4,34	1,67	1,26
D	0,447	11,6	143,0	4,48	1,74	2,10
D	0,539	12,6	146,3	4,26	1,81	1,51
D	0,601	9,0	133,3	4,00	1,63	1,85
D	0,663	16,6	155,6	4,87	2,00	2,29
D	0,725	13,6	144,6	4,90	2,05	3,09
D	0,806	19,0	155,3	4,86	2,03	3,37
S	0,415	12,0	164,0	4,05	1,66	3,09
S	0,447	18,0	153,5	4,94	2,12	3,02
S	0,539	15,0	126,3	4,15	1,83	3,94
S	0,601	12,3	158,0	3,96	1,64	3,34
S	0,663	11,6	145,0	4,66	1,91	3,20
S	0,725	11,3	155,5	4,05	1,71	3,39
S	0,806	16,6	159,5	4,08	1,63	3,17
Média		13,1	148,1	4,38	1,81	2,72
p-valor						
Met+Cis		<0.0001	<0.0001	0.0004	0.0006	0.0002
Técnica		0.1969	0.2373	0.4571	0.9860	<0.0001

ALT: alanina amino transferase; AST: aspartato amino transferase; PT: proteína total; Alb: albumina; AU: ácido úrico. D: técnica da diluição; S: técnica da suplementação.

Em relação à enzima alanina aminotransferase (ALT), na técnica da diluição, a maior e menor concentração encontrada foi 19,0 U/L e 9,0 U/L, nos tratamentos D7 e D4. Para a técnica da suplementação, a maior concentração foi de 18,0 U/L, obtida no tratamento S2 enquanto que a menor foi de 11,3U/L no tratamento S6.

A segunda enzima mensurada, aspartato aminotransferase (AST), para a técnica da diluição, apresentou a maior concentração no tratamento D1, correspondendo a 161,0 U/L, a menor foi observada na dieta D4 (0,601% de Met + Cis), correspondendo a 133,3U/L. Para a técnica da suplementação, o maior valor observado foi de 164,0 U/L, no menor nível de Met + Cis (S1). O menor valor foi de 126,3 U/L, observado no tratamento S3, contendo 0,539% de Met + Cis.

Ogunbode et al. (2021), testando níveis de proteína bruta nas dietas apontaram que à medida em que os níveis de proteína reduziram, as concentrações plasmáticas de ALT aumentaram. Gonçalves et al. (2010), apresentaram resultados semelhantes analisando os níveis séricos de enzimas hepáticas de galinhas poedeiras antes e após o pico de postura. De acordo com o autor, o aumento na concentração de nutrientes na dieta, eleva a demanda do sistema hepático para metabolização destes nutrientes, podendo levar ao rompimento das células hepáticas e conseqüentemente um aumento nas concentrações de suas enzimas. Essa justificativa colabora com o resultado encontrado no tratamento de maior concentração de metionina + cistina pela técnica da diluição (D7), em que foi registrado, para as duas técnicas, a maior concentração de ALT no soro. Nesta técnica, todos os aminoácidos estão em excesso, aumentando a necessidade de metabolização.

A proteína sérica total (PT) apresentou variações significativas entre os níveis de Met + Cis. De acordo com Schmidt et al. (2007), as concentrações das proteínas plasmáticas totais nas aves variam de 2,5 a 4,5 g/dL, a média obtida foi de $4,38 \pm 0,32$ g/dL, apontando que apesar do efeito estatístico ($p < 0,0004$), a alteração não foi suficiente para ultrapassar os limites fisiológicos das aves. Kakhki & Zarghi (2016), não observaram diferença nos níveis de proteína total no plasma de galinhas poedeiras de acordo com a ingestão de metionina+ cistina. A maior concentração de PT observada foi de 4,94 g/dL, no tratamento S2 (0,447% de Met + Cis) e a menor concentração foi de 3,96 g/dL no tratamento S4 (0,601% de Met + Cis).

A albumina sérica, por ser um dos componentes da PT, apresentou-se de maneira semelhante a esta variável. O maior valor observado foi de 2,12 g/dL para o tratamento S2 (0,447% de Met + Cis), enquanto que o mesmo nível para a técnica da diluição foi de 1,74 g/dL. A menor concentração de albumina mensurada foi de 1,63

g/dL, em ambas as técnicas, na diluição foi obtida no tratamento D4 (0,601% de Met + Cis) e na suplementação foi obtida no tratamento S7 (0,806% de Met + Cis).

Para análise dos níveis de ácido úrico (AU), a maior concentração foi observada na técnica da suplementação, no tratamento S6 (0,725% de Met + Cis), igual a 3,39 mg/dL. Resultado semelhante, 3,37 mg/dL, foi observado no tratamento D7 (0,806% de Met + Cis), elaborado pela técnica da diluição. A menor concentração registrada foi no tratamento D1 (0,415% de Met + Cis), contendo 1,26 mg/dL.

Todas as variáveis séricas avaliadas foram afetadas pelos níveis de Met + Cis ($p < 0,05$), os desdobramentos para ALT e AST em cada uma das técnicas encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8. Desdobramentos dos níveis de metionina + cistina sobre as concentrações séricas de ALT e AST.

Níveis	ALT (U/L)		AST (U/L)	
	D	S	D	S
0,415	9,3 b	12,0 c	161,0 a	164,0
0,447	11,6 ab	18,0 a	143,0 bc	153,5
0,539	12,6 ab	15,0 abc	146,3 abc	126,3
0,601	9,0 b	12,3 bc	133,3 c	158,0
0,663	16,6 a	11,6 c	155,6 ab	145,0
0,725	13,6 ab	11,3 c	144,6 bc	155,5
0,806	15,6 a	16,6 ab	155,3 ab	159,5

ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; D: técnica da diluição; S: técnica da suplementação

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Tabela 8. Desdobramentos dos níveis de metionina + cistina sobre as concentrações séricas de ALT e AST.

Níveis	
0,415	9,3 ±
	11,6
0,477	ab
	12,6
0,539	ab
0,601	9,0 ±
0,663	16,6
	13,6
0,725	ab
0,806	15,6

ALT: alanina amino transferase; AST: aspartato amino transferase; D: técnica da diluição; S: técnica da suplementação.

Para a técnica da diluição, as médias das concentrações de ALT não diferiram entre si para os tratamentos D2, D3 e D6. Os tratamentos D5 e D7 diferiram significativamente dos tratamentos D1 e D4. Para a técnica da suplementação, o segundo nível (S2) diferiu significativamente dos tratamentos S1, S5 e S7, não houve diferença entre os demais. Considerando a enzima AST, na técnica da diluição, somente as médias dos tratamentos D1 e D4 apresentaram diferença significativa. Para a técnica da suplementação, não houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos. Os desdobramentos para PT, Alb e AU encontram-se na Tabela 10.

Tabela 9. Desdobramentos dos níveis de metionina+cistina sobre as concentrações séricas de proteína total, albumina e ácido úrico.

Níveis	PT (g/dL)		Alb (g/dL)		AU (mg/dL)	
	D	S	D	S	D	S
0,415	4,3 ab	4,0	1,6 c	1,6	1,2 d	3,0
0,447	4,4 ab	4,9	1,7 bc	2,1	2,1 cd	3,0
0,539	4,2 b	4,1	1,8 abc	1,8	1,5 cd	3,9
0,601	4,0 b	3,9	1,6 c	1,6	1,8 cd	3,3
0,663	4,8 a	4,6	2,0 ab	1,9	2,2 bc	3,2
0,725	4,9 a	4,0	2,0 a	1,7	3,0 ab	3,3
0,806	4,8 a	4,0	2,0 a	1,6	3,3 a	3,1

PT: proteína total; Alb: albumina, AU: ácido úrico; D: técnica da diluição; S: técnica da suplementação.

Médias seguidas por letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Em relação ao ácido úrico, na técnica da diluição, os tratamentos D1 e D7 diferiram significativamente entre si, não houve diferença entre os demais tratamentos. Dentre as médias obtidas pela técnica da suplementação, não houve diferença significativa entre os diferentes níveis.

O ácido úrico é o principal produto gerado pelas aves no metabolismo de nitrogênio (Schmitd et al,2007). Donsbough et al (2010), concluiu em sua pesquisa com frangos de corte, que os níveis séricos de ácido úrico podem ser usados como indicadores da utilização de aminoácidos das dietas. O autor observou que os animais alimentados com as dietas formuladas pela técnica da diluição, os níveis plasmáticos

de AU foram numericamente menores que os dos animais alimentados com dietas formuladas pela técnica da suplementação, corroborando com os achados deste trabalho. Em contrapartida, Kakhki & Zarghi (2016), não observaram diferença nos níveis de ácido úrico no plasma de galinhas poedeiras de acordo com a ingestão de Met + Cis, possivelmente pela baixa amplitude dos tratamentos estabelecidos em seu estudo.

De acordo com Saki et al (2015), a concentração plasmática de ácido úrico pode reduzir com o melhor balanço de aminoácidos na dieta, fato que ocorre na técnica da diluição, as concentrações de AU foram numericamente maiores na técnica da suplementação e indicam uma maior demanda renal para excreção dos aminoácidos excedentes. Desta forma, conclui-se que ainda que ambas as técnicas apresentem aminoácidos em excesso em alguns tratamentos, o balanço de aminoácidos constante proposto na técnica da diluição reduz a excreção dos aminoácidos excedentes.

Conclusões

A técnica da diluição e a técnica da suplementação utilizadas para a formulação de dietas experimentais não diferiram nos efeitos sobre o desempenho das aves. Em relação as características histológicas e bioquímicas apresentadas, as duas técnicas também apresentaram resultados semelhantes. A maior parte das diferenças obtidas entre os parâmetros avaliados foi associado aos níveis de metionina + cistina digestível em detrimento da técnica utilizada.

Referências

ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual 2021**. São Paulo: ABPA. Disponível em: <https://abpa-br.org/relatorios/>.

ALAGAWANY, M.; EL-HACK, M. E. A.; FARAG, M. R. et al. Positive and negative impacts of dietary protein levels in laying hens. **Asian Journal of Animal Sciences**, v. 10, n. 2, p. 165 - 174, 2016.

AL-SHAFFAR, A. A. & ROSE, S. P. The response of laying hens to dietary amino acids. **World's Poultry Science Journal**, v. 58, n. 2, p. 209 – 234, 2002.

BAVASARDI, M.; MAHDAVI, A. H.; ANSARI-MAHYARI, S. & JAHANIAN, E.

Sanguinarie improved nutrient digestibility, hepatic health indices and productive performance in laying hens fed low crude protein diets. **Veterinary Medicine and Science**, v.7, p. 800- 811, 2021.

BENDEZU, H. C. P.; SAKOMURA, N. K.; HAUSCHILD, L. et al. Response of laying hens to methionine + cystine intake by dilution technique. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 44, n. 1, p. 15–21, 2015.

BUNCHASAK, C. Role of dietary methionine in poultry production. **Japan Poultry Science Association**, v. 46, p. 114- 119, 2009.

DONSBPUGH, A.L.; POWELL, S.; WAGUESPACK, A.; BIDNER, T.D.; SOUTHERN, L.L. Uric acid, urea, and ammonia concentrations in serum and uric acid concentration in excreta as indicators of amino acid utilization in diets for broilers. **Poultry Science**, v.89, p. 287 – 294, 2010.

FAO. 2021. World Food and Agriculture - Statistical Yearbook 2021. Roma. Disponível em: <https://doi.org/10.4060/cb4477en>.

FISHER, C. & MORRIS, T. R. The determination of the methionine requirement of laying pullets by a diet dilution technique. **British Poultry Science**, v. 11, n. 1, p. 67-82, 1970.

GONÇALVES, F. M.; RIBEIRO, E. M.; MONTAGNER, P. et al. Níveis séricos de enzimas hepáticas em poedeiras comerciais no pré-pi e pico de produção de ovos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 38, n. 3, p. 311- 314, 2010.

HARMS, R. H. & RUSSEL, G. B. Performance of commercial laying hens fed diets with various levels of methionine. **Journal of Applied Poultry Research**, v.12, p. 449 – 455, 2003.

HIRAMOTO, K.; MURAMATSU, T. & OKUMURA, J. Effect of methionine and lysine deficiencies on protein synthesis in the liver and oviduct in the whole body of laying hens. **Poultry Science**, v. 69, p. 84-89, 1988.

KAKHI, R. A. M.; GOLIAN, A. & ZARGHI, H. Effect of digestible methionine + cystine concentration on performance, egg quality and blood metabolites in laying hens. **British Poultry Science**, v.57, n.3, p.403 – 414, 2016.

OGUNBODE, S. M. & IYAYI, E. A. Biochemical effects of low crude protein diets supplemented with varying methionine concentrations. **Jordan Journal of Biological Sciences**, v. 14, n. 2, 2021.

ROSTAGNO, H. S. et al., 2017. Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos - Composição de alimentos e exigências nutricionais. 3. Viçosa, MG: UVF, DZO.

SAKI, A.A.; ZAMANI, P.; HAGHI, M.; ALIARABI, H.; MALECKY, M.; RAHMATNEJAD, S. and AHMADI, E. Molecular aspects, blood parameters, bone mechanical properties, and performance of laying hens in response to various levels of methionine and protein. **Revue Méd. Vét.**, v.166, n. 1-2, p.47-53, 2015.

SCHMIDT, E. M. S.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SANTINI, E. et al. Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola- Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, n. 3, p. 9 – 20, 2007.