

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA  
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EXIGÊNCIA DE METIONINA + CISTINA PARA POEDEIRAS  
COMERCIAIS SEMI PESADAS**

**TATYANY SOLEDADE ANDRADE MANI**  
Zootecnista

**2022**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA  
FILHO” FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EXIGÊNCIA DE METIONINA + CISTINA PARA POEDEIRAS  
COMERCIAIS SEMI PESADAS**

**Discente: Tatyany Soledade Andrade Mani**

**Orientador: Prof. Dr. Edney Pereira da Silva**

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 Zootecnia.

**2022**

M278e Mani, Tatyany Soledade Andrade  
Exigência de metionina + cistina para poedeiras comerciais semi pesadas / Tatyany Soledade Andrade Mani. -- Jaboticabal, 2023  
42 f. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal  
Orientador: Edney Pereira da Silva

1. Galinhas poedeiras. 2. Aminoácidos. 3. Ovos produção. 4. Metionina. 5. Cistina. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.  
Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias,  
Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

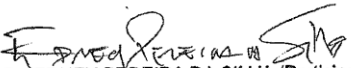



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EXIGÊNCIA DE METIONINA + CISTINA PARA POEDEIRAS COMERCIAIS SEMI PESADAS

AUTORA: TATYANY SOLEDADE ANDRADE MANI  
ORIENTADOR: EDNEY PEREIRA DA SILVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Zootecnia, pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. EDNEY PEREIRA DA SILVA (Participação Presencial)  
Departamento de Zootecnia / FCAV UNESP Jaboticabal

  
Prof. Dr. LUCIANO HAUSCHILD (Participação Presencial)  
Depto. de Zootecnia / UNESP FCAV Jaboticabal

  
Dr. RAMALHO JOSÉ BARBOSA RODRIGUEIRO (Participação Presencial)  
CJ do Brasil Indústria e Comércio de Produtos Alimentícios LTDA / São Paulo/SP

Jaboticabal, 02 de dezembro de 2022

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

Tatyany Soledade Andrade Mani, nascida em 02 de setembro de 1996, na cidade de Unaí, Minas Gerais. Filha de Luiz Henrique Mani e Elvira Vaz de Andrade Mani. Possui graduação em Zootecnia (2014 – 2019) pela Universidade Federal de Lavras. Em agosto de 2020 iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal, São Paulo, sob orientação do Prof. Dr. Edney Pereira da Silva.

“Você nunca sabe a força que tem. Até que a sua única  
alternativa é ser forte.”

(Johnny Depp)

Dedico

Aos meus pais Elvira e Luiz e aos meus irmãos Bruno e Turliany por serem meus  
maiores incentivadores.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por tudo.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/ UNESP – Jaboticabal, SP e ao setor de Avicultura pela oportunidade, ensino e estrutura necessários para a execução do meu trabalho;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

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

À empresa CJ Brasil (CJ Cheiljedang), pela contribuição no desenvolvimento desse trabalho, em especial ao Dr. Ramalho Rodrigues e a Dra. Eliane Aparecida da Silva.

Aos meus pais, Luiz e Elvira, pela criação, carinho, por estarem sempre ao meu lado e nunca medir esforços para que eu possa estudar. Aos meus irmãos, Bruno e Turliany, pelas conversas, apoio, conselhos e amizade eterna. Vocês quatro são minha família e minha base.

Ao meu companheiro, Alan Leone, pelo amor, amizade e cumplicidade. Gratidão por sempre estar ao meu lado.

Aos meus familiares pelo apoio e orações.

Ao meu orientador Prof. Dr. Edney Pereira da Silva, pela oportunidade, confiança e por todas as contribuições valiosas na condução e elaboração do presente trabalho.

Aos membros que participaram da banca de qualificação: Prof Dr. Edney Pereira da Silva, Prof. Dr. Luciano Hauschild e Dra. Eliane Aparecida da Silva.

Aos membros que participaram da banca de defesa: Prof Dr. Edney Pereira da Silva, Prof. Dr. Luciano Hauschild e Dr. Ramalho Rodrigueiro.

Ao PEG (Poultry Education Group), por todo aprendizado, conhecimento adquirido e auxílio durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Lizia por me acolher desde o primeiro dia. Gratidão por todos os momentos, amizade e conselhos.

A todos que de alguma forma contribuíram na minha formação profissional, o meu muito obrigado.

## SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. Considerações gerais.....	14
1.1. INTRODUÇÃO .....	14
1.2. REVISÃO DE LITERATURA .....	15
1.2.1. Metionina e cistina.....	15
1.2.2. Exigência de metionina + cistina para poedeiras .....	16
1.2.3. Dose resposta para estimar a exigência de metionina+cistina .....	17
1.2.4. Eficiência de utilização de aminoácidos para aves .....	18
1.2.5. Manutença .....	19
CAPÍTULO 2 .....	24
ABSTRACT .....	26
INTRODUCTION.....	27
MATERIALS AND METHODS .....	27
RESULTS.....	29
ACKNOWLEDGMENTS .....	34
REFERENCES.....	34

## CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Câmpus de Jaboticabal



### 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

## EXIGÊNCIA DE METIONINA + CISTINA PARA POEDEIRAS COMERCIAIS SEMI PESADAS

**RESUMO** - A metionina é considerada o primeiro aminoácido essencial limitante nas dietas formuladas a base de milho e farelo de soja para aves de postura. Ela atua na síntese de proteínas, no sistema imunológico, nas reações metabólicas, no desempenho e empenamento das aves por meio da síntese de colina, betaína creatina, carnitina, atuando, ainda, como regulador de divisão celular. A cistina é importante para a formação da pele e penas, estimula o sistema hematopoiético, promove a formação de glóbulos brancos e vermelhos além de contribuir para o processo de cicatrização. O presente trabalho visa determinar as recomendações de metionina + cistina para galinhas poedeiras. Para isso, foi realizado um ensaio com 150 galinhas poedeiras da linhagem Hy-line Brown com duração de 10 semanas. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com 15 tratamentos e 10 repetições de uma ave cada. Os tratamentos consistiram em sete níveis de metionina + cistina digestível 4,15; 4,47; 5,39; 6,01; 6,63; 7,25 e 8,06 g/kg. Portanto, as variáveis analisadas foram EW (g), EP (%), FI (g/ave·d), PC (g), conversão alimentar por produção de ovos (FCR, g/g), corrigida para mortalidade, produção de ovos (EO, g/ave·d), ingestão de metionina+cistina (mg/ave·d) e deposição de metionina+cistina no ovo (mg/ave·d), eficiência de utilização e manutenção. As variáveis coletadas para a qualidade do ovo foram peso da gema (g), peso da casca (g) e altura do albúmen (mm). Esses dados foram coletados na terceira, sexta e décima semana do experimento, dois dias por semana. Quando o efeito dos níveis de metionina+cistina ( $P \leq 0,05$ ) foi detectado, os modelos linear-platô (BL), quadrático-platô (BLq) e o primeiro intercepto foram ajustados para determinar a ingestão ideal de metionina+cistina. O valor calculado da primeira intersecção de BLq no platô da BL foi de 596,9 mg/ave por dia, considerado o nível ótimo de ingestão de metionina+cistina para produção de ovos em poedeiras Hy-line Brown.

**Palavras-chave:** Metionina+cistina; galinha poedeira; aminoácidos; produção de ovos; broken line linear-quadratic-platô.

## METHIONINE + CYSTINE REQUIREMENT FOR COMMERCIAL LAYING HENS

**ABSTRACT** – Methionine is considered the first limiting essential amino acid in diets based on corn and soybean meal for laying hens. It acts on protein synthesis, the immune system, metabolic reactions, performance and feathering of birds through the synthesis of choline, betaine, creatine, carnitine, and acts as a cell division regulator. Cystine is important for the formation of skin and feathers, stimulates the hematopoietic system, promotes the formation of white and red blood cells, and contributes to the healing process. The present work aims determine the recommendations of methionine + cystine for laying hens. For that, an assay was carried out with 150 laying hens of the Hy-line Brown strain with a duration of 10 weeks. The design used was completely randomized, with 15 treatments and 10 repetitions of one bird each. Treatments consisted of seven levels of methionine + digestible cystine 4.15; 4.47; 5.39; 6.01; 6.63; 7.25 and 8.06 g/kg. Therefore, the variables analyzed were EW (g), EP (%), FI (g/bird·d), BW (g), feed conversion ratio by egg output (FCR, g/g), corrected for mortality, egg output (EO, g/bird·d), methionine+cystine intake (mg/bird·d) and methionine+cystine deposition in egg (mg/bird·d), efficiency of utilization and maintenance. The variables collected for egg quality were yolk weight (g), shell weight (g) and albumen height (mm). These data were collected on third, sixth and tenth week of the experiment, two days of week. When the effect of methionine+cystine levels ( $P \leq 0.05$ ) was detected, the models linear-plateau (BL), quadratic-plateau (BLq), and the first intercept were adjusted to determine the ideal methionine+cystine intake. The calculated value of the first interception of BLq on the plateau of the BL was 596.9 mg/bird per day, which was considered the optimum level methionine+cystine intake for egg output in Hy-line Brown laying hens.

**Keywords:** Methionine+cystine; laying hens; amino acids; egg production; broken line linear-quadratic-plateau.

## **CAPÍTULO 1. Considerações gerais**

### **1.1. INTRODUÇÃO**

A metionina é considerada o primeiro aminoácido essencial limitante nas dietas formuladas a base de milho e farelo de soja para aves de postura. Ela atua na síntese de proteínas, no sistema imunológico, nas reações metabólicas, no desempenho e empenamento das aves por meio da síntese de colina, betaína creatina, carnitina, atuando, ainda, como regulador de divisão celular (Bunchasak, 2009). Segundo Rostagno et al. (2011) ao menos 55% dos aminoácidos sulfurados na dieta devem ser de metionina, pois essa é precursora da cisteína, que pelo mecanismo de transulfuração é responsável pela formação da cistina, onde as moléculas de cisteína se ligam aos pares por uma ponte dissulfeto durante a formação da proteína (Pillai et al., 2006; Baker, 2006). A cistina é importante para a formação da pele e penas, estimula o sistema hematopoiético, promove a formação de glóbulos brancos e vermelhos além de contribuir para o processo de cicatrização.

Visto que os aminoácidos são importantes para o desempenho das poedeiras, o desbalanço deles pode reduzir a eficiência de utilização da proteína dietética (Pack, 1995), ao passo que a deficiência dos aminoácidos resulta no catabolismo da proteína corporal e o excesso de aminoácidos pode gerar incremento calórico corporal, uma vez que terá uma demanda energética para a excreção de nitrogênio (packing, 1998; Brumano, 2008). Dessa forma, é fundamental conhecer a exigência dos aminoácidos, pois o fornecimento de uma dieta balanceada permite que o animal tenha um melhor desempenho, evitando o desperdício dos ingredientes além de reduzir os impactos ambientais causados pela excreção de nitrogênio.

Portanto, o objetivo desse estudo foi determinar as recomendações de metionina+cistina para poedeiras comerciais semipesadas.

## 1.2. REVISÃO DE LITERATURA

### 1.2.1. Metionina e cistina

A metionina é um aminoácido essencial e o primeiro limitante nas dietas a base de milho e farelo de soja para aves. Atua no sistema imunológico, desempenho e empenamento além de participar da biossíntese de substâncias como creatina, poliaminas e melatonina (Baker et al., 1996; Schutte et al., 1997). Ademais, é doadora do grupo metil para reações metabólicas como síntese de colina, betaína (Leeson et al., 2001; Carvalho, 2017), creatina e estimula o catabolismo oxidativo dos ácidos graxos através da síntese de carnitina (Bunchasak, 2009; Corzo et al., 2006).

A metionina é essencial na regulação da divisão celular e proteção das células contra o estresse oxidativo por ser precursora da glutatona, um importante antioxidante celular (Li et al., 2007; Tesseraud et al., 2009). A metionina também é precursora da sarcosina pela via transmetilação, com função importante na estrutura de proteínas como a imunoglobulina e insulina (Corzo et al., 2006).

É precursora da cisteína, que pelo mecanismo de transulfuração é responsável pela formação da cistina, onde as moléculas de cisteína se ligam aos pares por uma ponte dissulfeto durante a formação da proteína (Pillai et al., 2006; Baker, 2006), o que justifica as recomendações nutricionais serem expressas como metionina+cistina (Carvalho, 2017), uma vez que a cistina é importante para a formação da pele e penas dos animais, além de contribuir com o processo de cicatrização estimulando o sistema hematopoiético e promovendo a formação de glóbulos brancos e vermelhos (Pinheiro et al., 2021).

As principais fontes comerciais de metionina industrial utilizada nas dietas das aves são a L-metionina, DL-metionina em pó, a metionina hidroxí-análoga (MHA) em pó, como sal de cálcio (MHA-Ca) ou na forma líquida como ácido livre (MHA-AL). Exceto a L-metionina que é produzida por processo de fermentação, todas as outras fontes são produzidas por síntese química em que a DL-Met é constituída por 50% de D-Met (dextrogiras) e 50% L-Met (levogiras) e a MHA é constituída por 65% de monômeros, 23% de polímeros e 12% de água (Lawson e Ivey, 1986). As fontes sintéticas de metionina apresentam quantidades iguais dos isômeros D e L e dessa

forma devem ser convertidas em L-metionina para serem utilizadas na síntese de proteína (Dibner, 2003).

### **1.2.2. Exigência de metionina + cistina para poedeiras**

O NRC (1994), a Tabela Brasileira (Rostagno et al. 2017), manuais de linhagem como o Guia de Manejo Hy-line bem como diversos artigos publicados recomendam diferentes níveis de metionina+cistina para poedeiras em razão de fatores que devem ser considerados, como a idade, mudança no potencial genético, teor de proteína da ração e condições ambientais (Waldroup e Hellwig, 1995; Jordão Filho et al., 2006).

Ao longo dos anos foram introduzidas no mercado linhagens comerciais de poedeiras que possuem melhor capacidade para conversão dos nutrientes da ração (Jordão Filho et al., 2006). Ahn et al. (1997) testaram o efeito da linhagem de galinhas poedeiras sobre a relação gema/clara e os sólidos contidos no ovo e perceberam diferenças significativas nos sólidos do ovo e na relação gema/clara em função da linhagem. As linhagens H&N, Delta, Hy-Line W36 e Hy-Line W77 apresentaram sequencialmente, um aumento nos sólidos do ovo, da gema e clara. Os autores ainda argumentaram que as diferenças foram potencialmente advindas em razão da genética, visto que nos últimos anos houve uma intensificação dos programas de seleção genética para produção e peso dos ovos. Em relação a idade das aves, a exigência de energia aumenta, enquanto a dos aminoácidos diminui ao longo do crescimento das poedeiras (D'Mello, 2003; Brumano, 2008).

Calderon e Jensen (1989) observaram que o aumento de DL-metionina em conjunto com a elevação na concentração da proteína da ração, resultou melhorias na produção, peso e massa de ovos das galinhas poedeiras. Em relação as condições ambientais, Mueller (1959) observou que as poedeiras reduzem o consumo de ração quando estão em um ambiente com alta temperatura (32°C), assim como Hsu et al. (1998) constataram que o aumento da temperatura agravou a produção e peso dos ovos.

Dessa forma, ao longo dos anos foram encontrados diferentes níveis de recomendações para metionina+cistina. O NRC (1994) recomenda 530 mg/ave/dia de metionina+cistina para poedeiras brancas com consumo de ração de 100 g/ave/dia. Barbosa et al. (1999), estimaram que as exigências nutricionais de metionina+cistina

semipesadas de 799 mg/ave/dia. Jordão Filho et al. (2006), encontraram que as poedeiras semipesadas, desde o início de postura até o final do pico de produção, exigem uma quantidade de metionina + cistina de 762 mg/ave/dia em sua dieta e para Sá et al. (2007), tal exigência foi de 793 mg/ave/dia de metionina + cistina para semipesadas.

Estudos realizados por Cupertino et al. (2009), demonstraram que as poedeiras semipesadas necessitam de 723 mg/ave/dia.

Em 2011, Schmidt et al., entendiam que a exigência nutricional para melhor desempenho de metionina + cistina digestível, para aves de 79 a 95 semanas de idade, deveria ser superior a 796 mg/ave/dia.

Bendezu et al. (2015), por meio de seu estudo, utilizando a técnica da diluição, encontraram que a ingestão de metionina + cistina digestível no valor de 770 mg/ave/dia otimiza a resposta das aves no período de 45 a 48 semanas de idade. Rostagno et al. (2017) propõe que a exigência de metionina + cistina digestível para poedeiras semipesadas de 833 mg/ave/dia. Por fim, o manual da linhagem Hy-line Brown (Hy-Line International, 2018) recomenda 728 mg/ave/dia de metionina+cistina.

### **1.2.3. Dose resposta para estimar a exigência de metionina+cistina**

Os estudos de dose resposta têm como objetivo estimar as exigências nutricionais com base na resposta do desempenho do animal, avaliando parâmetros como ganho de peso, conversão alimentar, produção de ovos em função do consumo de níveis crescentes do nutriente estudado (Sakomura & Rostagno, 2007).

A adição de um nutriente limitante na ração, desde que mantenha os níveis adequados dos demais nutrientes, resulta no crescimento animal até que a exigência seja atendida. Os modelos curvilíneos são utilizados por grande parte dos pesquisadores para explicar a relação entre a quantidade de aminoácido depositada e sua ingestão.

Nas respostas curvilíneas é possível verificar fases como inicial ou manutenção, onde os nutrientes são direcionados para as funções vitais do animal em maior quantidade quando comparado a deposição proteica. A fase de linear ou deposição, onde podemos observar a resposta e desempenho do animal, a fase de estabilidade onde a resposta do animal é constante ou há ausência de resposta ao primeiro

limitante e pôr fim a fase de toxidez quando o aminoácido está em excesso para a produção e desempenho do animal. Quando se tem uma curva bem definida é aconselhável estimar a eficiência de utilização do aminoácido estudado por meio de regressão entre a deposição e ingestão (Baker, 1986; Silva, 2012).

Nas respostas curvilíneas, a inclinação formada entre aminoácido depositado e ingerido decai quando o animal atinge 70% da máxima resposta, onde, do ponto de vista nutricional, neste momento se inicia a fase de atendimento para o indivíduo médio da população (Baker, 1986; Silva, 2012).

#### **1.2.4. Eficiência de utilização de aminoácidos para aves**

Na nutrição aminoacídica, a eficiência de utilização é representada pela relação entre a quantidade de aminoácido depositada e sua ingestão para deposição (Silva et al., 2014).

Segundo Silva (2012), os aminoácidos cristalinos da dieta são absorvidos mais rapidamente e a síntese proteica não ocorre de forma perfeita, devido aos demais aminoácidos ainda estão na fase de digestão; o programa de alimentação pode agravar a síntese proteica. De acordo com um estudo comentado por Baker (1986), quando o programa de alimentação foi de uma vez ao dia a lisina cristalina tornou-se apenas 50% biodisponível. Dessa forma, é desejável que no aumento da inclusão de aminoácido cristalino na dieta, as refeições sejam frequentes ou o regime *ad libitum* seja adotado.

Os níveis de proteína e aminoácidos podem variar de uma dieta experimental para outra, pois à medida que a concentração desses níveis diminui, as aves tendem a consumir mais ração no intuito de suprir à quantidade necessária do aminoácido limitante para a produção de ovos. Porém, quando a deficiência desse aminoácido for grande, a ingestão de ração não é viável, visto que provocaria o aumento da produção de calor do animal (Bowmaker e Gous, 1991).

O consumo de alimento também será limitado pela densidade volumétrica das dietas, posto que dietas pouco densas, dificultam a ingestão pelas aves (Emmans, 1981). Narváez-Solarte et al. (2005) verificaram que níveis superiores a 0,684% de metionina + cistina totais na dieta podem causar efeitos negativos na produção de

ovos, promovendo desbalanço aminoacídico e ocasionam redução na síntese proteica com o aumento no catabolismo do aminoácido limitante.

Alguns autores recomendam que a eficiência de utilização para aves seja em torno de 80% (Martin et al., 1994). McDonald and Morris (1985), sugerem uma eficiência de utilização de 0.74 para poedeiras comerciais. Bowmaker and Gous (1991), sugerem o valor de 0.65 para matrizes pesadas. No estudo conduzido por Silva (2012) foi encontrada uma média de 72% para eficiência de utilização de metionina+cistina para frangas de postura em fase de crescimento. Dessa forma, é importante conhecer a eficiência de utilização do aminoácido e deste modo termos melhores respostas do desempenho do animal evitando assim, o desperdício de nutrientes quando fornecidos em excesso.

#### **1.2.5. Manutença**

O conceito de manutenção pode ser definido como estado de equilíbrio entre a ingestão de nutrientes e suas perdas (Silva et al., 2014). Autores como Leveille e Fisher (1959) entendiam que para galinhas poedeiras, a manutenção é um estado em que elas são capazes de manter a produção de ovos e permanecer vivas, sendo necessário quantidades mínimas de nutrientes para manter o equilíbrio entre a ingestão e a excreção.

Durante a manutenção ocorre perda de aminoácidos via pele e penas; perdas endógenas de aminoácidos do intestino; perda de aminoácidos livres na urina e perda de proteína corporal (Moughan, 2003; Bonato et al., 2011). No entanto, para manter o equilíbrio de nitrogênio, os aminoácidos devem ser fornecidos na mesma proporção em que são perdidos pelo metabolismo, secreção e excreção (Sakomura e Rostagno, 2007).

Os estudos para determinar as necessidades de aminoácidos para manutenção são idealmente conduzidos com galos adultos, uma vez que a manutenção representa a maior parte das suas necessidades. As aves em crescimento não são comumente utilizadas, pois seu peso e composição corporal mudam diariamente (Bonato et al., 2011), além de particionarem os aminoácidos consumidos em crescimento e manutenção acarretando, assim, a confusão durante a interpretação dos resultados (Nonis e Gous, 2008).

Para Bonato et al. (2011), a quantidade diária de metionina+cistina para manutenção de galos adultos foi estimada em 19 mg/kg de peso corporal, 26 mg/kg PC<sup>0,75</sup>. Bendezu et al. (2015), por meio de um ensaio utilizando a técnica da diluição, dividiram as aves por idade em quatro períodos de 28 dias (33-36, 37-40, 41-44 e 45-48 semanas) e a ingestão de metionina + cistina digestível teve um acréscimo em aproximadamente 100 mg/ave/dia. Tal resultado se deu em razão do aumento da necessidade da manutenção em função da idade da ave, que estimada pelo modelo broken line, pode ser de 37, 39, 48 e 52 mg/ave/dia para o primeiro, segundo, terceiro e quarto períodos, respectivamente. Dessa forma, diante do exposto é importante conhecer as necessidades de manutenção, uma vez que apresentam valores diferentes quando leva em consideração o animal estudado, a idade e até mesmo a formulação utilizada.

### 1.3. REFERÊNCIAS

Ahn, D. U., S. M. Kim, and H. Shu. 1997. Effect of Egg Size and Strain and Age of Hens on the Solids Content of Chicken Eggs. **Poult. Sci.** 76:914–919 Available at <http://dx.doi.org/10.1093/ps/76.6.914>.

Baker, D. H. 2006. Comparative species utilization and toxicity of sulfur amino acids. **J. Nutr.** 136:1670–1675.

Baker, D. H. 1986. Problems and pitfalls in animal experiments designed to establish dietary requirements for essential nutrients. **J. Nutr.** 116:2339–2349.

Baker, D. H., S. R. Fernandez, D. M. Webel, and C. M. Parsons. 1996. Sulfur amino acid requirement and cystine replacement value of broiler chicks during the period three to six weeks posthatching. **Poultry Science.** 75:737–742.

Barbosa, B. A. C. S., P. R. Soares, H. S. Rostagno, M. de A. e Silva, L. F. T. Albino, and A. S. das Graças. 1999. Exigência Nutricional de Metionina + Cistina para Galinhas Poedeiras de Ovos. **Rev. Bras. Zootec.** 28:526–533.

Bendezu, H. C. P., N. K. Sakomura, L. Hauschild, E. P. da Silva, J. C. de P. Dorigam, E. B. Malheiros, and J. B. K. Fernandes. 2015. Response of laying hens to methionine + cystine intake by dilution technique. **Rev. Bras. Zootec.** 44:15–21.

Bonato, M. A., N. K. Sakomura, J. C. Siqueira, J. B. K. Fernandes, and R. M. Gous. 2011. Maintenance requirements for methionine and cysteine, and threonine for poultry. **South African J. Anim. Sci.** 41:209–222.

Bowmaker, J. E., and R. M. Gous. 1991. The response of broiler breeder hens to dietary lysine and methionine. **Br. Poult. Sci.** 32:1069–1088.

Brumano, G., P. C. Gomes, J. L. Donzele, H. S. Rostagno, T. C. da Rocha, and H. H. C. Mello. 2010. Digestible methionine + cystine levels for light-weight laying hens from 42 to 58 weeks of age, Níveis de metionina + cistina digestível para poedeiras leves no período de 42 a 58 semanas de idade. **Rev. Bras. Zootec.**

Brumano, G. 2008. Níveis de metionina + cistina digestíveis em rações para poedeiras leves, nos períodos de 24 a 40 e de 42 a 58 semanas de idade. **Tese doutorado** - Univ. Fed. Viçosa:1–104.

Bunchasak, C. 2009. Role of dietary methionine in poultry production. **J. Poultry Science.** 46:169–179.

Calderon, V. M., and L. S. Jensen. 1990. The requirement for sulfur amino acid by laying hens as influenced by the protein concentration. **Poult. Sci.** 69:934–944 Available at <http://dx.doi.org/10.3382/ps.0690934>.

Carvalho, G. B. De. 2017. Níveis e fontes de metionina na nutrição de frangos de corte. **Tese de doutorado.** UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS.

Corzo, A., M. T. Kidd, W. A. Dozier, L. A. Shack, and S. C. Burgess. 2006. Protein expression of pectoralis major muscle in chickens in response to dietary methionine status. **Br. J. Nutr.** 95:703–708.

Cupertino, E. S., P. C. Gomes, H. S. Rostagno, J. L. Donzele, M. Schmidt, and H. H. de Carvalho Mello. 2009. Exigência nutricional de metionina+cistina digestíveis para galinhas poedeiras de 54 a 70 semanas de idade. **Rev. Bras. Zootec.** 38:1238–1246.

D'MELLO, J.P.F. Responses of growing poultry to amino acids. In: D'MELLO, J.P.F. **Amino acid in animal nutrition.** 2nd ed. Wallingford: CABI Publishing, 2003. p.237–264.

Dibner, J. J. 2003. Review of the metabolism of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid. **Worlds. Poultry Science** 59:99–110.

Emmans, G. C. 1981. 3.3 A model of the Growth and Feed Intake of Ad Libitum Fed Animals, Particularly Poultry. **BSAP Occas. Publ.** 5:103–110.

Fisher C. e Morris T. R. 1970. The Determination Of The Methionine Requirement Of Laying Pullets By A Diet Dilution Technique. **Br. Poult. Sci.** 11:67–82.

Hsu, J. C., C. Y. Lin, and P. W. S. Chiou. 1998. Effects of ambient temperature and methionine supplementation of a low protein diet on the performance of laying hens. **Anim. Feed Sci. Technol.** 74:289–299.

Hy-Line International |. 2018. **Guia de Manejo.**

Jordão Filho, J. J., Humberto, E. Lindolfo, M. Luis, G. Ribeiro, T. Domiciano, D. Martins, and C. B. Rabello. 2006. Exigências nutricionais de metionina+cistina para poedeiras semipesadas do início de produção até o pico de postura Methionine + cystine requirements of semi-heavy laying hens from the starter to peak of egg production. **Rev. Bras. Zootec.** 35.

Lawson, C. Q., and F. J. Ivey. 1986. Hydrolysis of 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid dimer in two model systems. **Poultry Science.** 65:1749–1753 Available at <http://dx.doi.org/10.3382/ps.0651749>.

Leeson, S., J. D. Summers, and L. J. Caston. 2001. RESPONSE OF LAYERS TO LOW NUTRIENT DENSITY DIETS. **J. Appl. Poult. Res.** 10:46–52 Available at <http://dx.doi.org/10.1093/japr/10.1.46>.

Li, P., Y. L. Yin, D. Li, W. S. Kim, and G. Wu. 2007. Amino acids and immune function. **Br. J. Nutr.** 98:237–252.

Martin, P. A., G. D. Bradford, and R. M. Gous. 1994. A Formal Method of Determining the Dietary Amino Acid Requirements of Laying-Type Pullets During Their Growing Period. **Br. Poult. Sci.** 35:709–724.

McDonald, M. W., and T. R. Morris. 1985. Quantitative review of optimum amino acid intakes for young laying pullets. **Br. Poult. Sci.** 26:253–264.

Mueller, W. J. 1959. The Effect of Environmental Temperature and Humidity on the Calcium Balance and Serum Calcium of Laying Pullets. **Poult. Sci.** 38:1296–1301 Available at <http://dx.doi.org/10.3382/ps.0381296>.

Narváez-Solarte, W., H. S. Rostagno, P. R. Soares, M. A. Silva, and L. F. U. Velásquez. 2005. Nutritional requirements in methionine+cystine for white-egg laying hens during the first cycle of production. **International Journal Poultry Science.**

Nonis, M. K., and R. M. Gous. 2008. Threonine and lysine requirements for maintenance in chickens. **South African Journal Animal Science.** 38:75–82.

National Research Council. **Nutrient requirements of poultry.** 9th ed. Washington.: National Academy of Science, 1994.

Pillai, P.B., A. C. Fanatico, K.W. Beers, M.E. Blair and J.L.Emmert. 2006. Homocysteine remethylation in young broilers fed varying levels of methionine, choline, and betaine. **Poultry Science.** 85:90-95.

Pinheiro, S. G., F. Guilherme, and P. Costa. 2021. Relação energia metabolizável : aminoácidos sulfurosos para aves leves nas fases de crescimento **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4.

Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT, Euclides RF. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.** Viçosa, MG; Universidade Federal de Viçosa, 252 p, 2011.

Rostagno, H.S.; Albino, L.F.T.; Donzele, J.L.; Gomes, P.C.; Ferreira, A.S.; Oliveira, R.F.M.; Lopes, D.C.; **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG. Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2017.

Sá, L. M., P. C. Gomes, H. S. Rostagno, L. F. T. Albino, and C. C. C. Nascif. 2007. **Revista Brasileira de Zootecnia** Exigência nutricional de lisina digestível para galinhas poedeiras no período de 34 a 50 semanas de idade 1 Nutritional requirement of lysine for laying hens in the period from 34 to 50 weeks old.

Sakomura, N.K. & Rostagno, H.S., 2007. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: Funep. 283 p.

Schmidt, M., P. C. Gomes, H. S. Rostagno, L. Fernando, T. Albino, R. V. Nunes, and G. Brumano. 2009. **Revista Brasileira de Zootecnia** Níveis nutricionais de metionina + cistina digestível para poedeiras semipesadas no segundo ciclo de produção Nutrition levels of digestible methionine + cystine for brown-egg laying hens in the 2<sup>nd</sup> production cycle Materi. 3598.

Schutte, J. B., J. De Jong, W. Smink, and M. Pack. 1997. Replacement Value of Betaine for DL-Methionine in Male Broiler Chicks **Poultry Science**. 76:321–325 Available at <http://dx.doi.org/10.1093/ps/76.2.321>.

Silva, E. P. 2012. **Modelos de crescimento e das respostas de frangas de postura submetidas a diferentes ingestões de aminoácidos sulfurados**. Tese de doutorado. Unesp - Jaboticabal, SP.

Silva, E. P., N. K. Sakomura, J. C. de Paula Dorigam, E. B. Malheiros, J. B. K. Fernandes, and J. A. de Araujo. 2014. Um procedimento para avaliar a eficiência de utilização do aminoácido dietético para aves. **Acta Sci. - Anim. Sci.** 36:163–169.

Tesseraud, S., S. Métayer Coustard, A. Collin, and I. Seilliez. 2009. Role of sulfur amino acids in controlling nutrient metabolism and cell functions: Implications for nutrition. **Br. J. Nutr.** 101:1132–1139.

Waldroup, P. W., and H. M. Hellwig. 1995. Methionine and total sulfur amino acid requirements influenced by stage of production. **J. Appl. Poult. Res.** 4:283–292.

## **CAPÍTULO 2 – METHIONINE+CYSTINE REQUIREMENT FOR LAYING HENS**

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas da Poultry Science.

## **Methionine+Cystine requirement for laying hens**

T.S.A. Mani, M.G.B.L. Sousa, E.P. Silva<sup>1</sup>

Department of Animal Science, Universidade Estadual Paulista, College of Agriculture and  
Veterinary Sciences, Campus de Jaboticabal, SP 14884-900, Brazil

<sup>1</sup>Corresponding author: Edney Pereira da Silva.  
E-mail: edney.silva@unesp.br

## ABSTRACT

The present work aims determine the recommendations of methionine + cystine for laying hens. For that, an assay was carried out with 150 laying hens of the Hy-line Brown strain with a duration of 10 weeks. The design used was completely randomized, with 15 treatments and 10 repetitions of one bird each. Treatments consisted of seven levels of methionine + digestible cystine 4.15; 4.47; 5.39; 6.01; 6.63; 7.25 and 8.06 g/kg. Therefore, the variables analyzed were EW (g), EP (%), FI (g/bird·d), BW (g), feed conversion ratio by egg output (FCR, g/g), corrected for mortality, egg output (EO, g/bird·d), methionine+cystine intake (mg/bird·d) and methionine+cystine deposition in egg (mg/bird·d), efficiency of utilization and maintenance. The variables collected for egg quality were yolk weight (g), shell weight (g) and albumen height (mm). These data were collected on third, sixth and tenth week of the experiment, two days of week. When the effect of methionine+cystine levels ( $P \leq 0.05$ ) was detected, the models linear-plateau (BL), quadratic-plateau (BLq), and the first intercept were adjusted to determine the ideal methionine+cystine intake. The calculated value of the first interception of BLq on the plateau of the BL was 596.9 mg/bird per day, which was considered the optimum level methionine+cystine intake for egg output in Hy-line Brown laying hens.

## INTRODUCTION

Methionine is the first limiting amino acid in diets based on corn and soybean meal for birds due to its restricted concentration in plants and high requirement by birds (Carvalho et al., 2018). It is the main donor of methyl groups for cellular metabolism, it acts on the performance and feathering of birds, participate in protein synthesis (Bunchasak, 2009) and being a precursor of cysteine, which, through the transsulfuration mechanism, is responsible for the formation of cystine (Pillai et al., 2006; Baker, 2006), which justifies the nutritional recommendations to be expressed as methionine+cystine (Carvalho, 2017). Cystine is important for the formation of skin and feathers, stimulates the hematopoietic system, promotes the formation of white and red blood cells, and contributes to the healing process (Pinheiro et al., 2021) making necessary to know the requirements of methionine+cystine, because they are great importance for birds.

Therefore, the present work aims determine the recommendations of methionine + cystine for laying hens.

## MATERIALS AND METHODS

### *Animals, Housing and Experimental Design*

The study was approved by the Animal Ethics and Welfare Committee of Universidade Estadual Paulista, Campus of Jaboticabal, under protocol number 502/22.

The assay consisted with 15 treatments and 10 replicates of one bird each and experimental design was completely randomized. A total of 150 Hy-line Brown laying hens at 37 weeks of age with egg production  $97\pm 4.5\%$  and average body weight  $1.741\pm 117$  g. The experiment was carried out in an open house with a trough feeder and nipple drinker. Water

and feed were provided *ad libitum* and the light program consisted of 17 hours of light and seven hours of dark.

### ***Experimental Diets***

The treatments were seven levels of digestible methionine plus cystine: L1, 4.15; L2, 4.47; L3, 5.39; L4, 6.01; L5, 6.63; L6, 7.25; L7, 8.06 g/kg.

A basal diet (D1) was formulated meeting the nutritional requirements of energy, minerals, vitamins, proteins, with the exception for methionine + cystine, which attended the amount of 4.15 g/kg of methionine + cystine in the diet. The other treatments were formulated with increasing methionine plus cystine levels (Table 1). The requirements of all essential amino acids were increased by 10% without limiting the maximum response in the formulated precision levels in the in methionine+cystine stability region.

### ***Experimental Procedures and Variables Analyzed***

The experiment lasted ten weeks, of which the last four weeks were destined to data collection. The temperature and relative humidity, egg production (EP) and mortality were measured every day. Besides that, the birds were weighed at the beginning, at the fifth week and at the end of the experiment to obtain the average body weight (BW). The feed leftovers were counted weekly to obtained feed intake (FI), the egg weight (EW) was measured three times a week and the mean temperature and relative humidity during the experiment were 26.3°C and 84%, respectively.

Therefore, the variables analyzed were EW (g), EP (%), FI (g/bird·d), BW (g), feed conversion ratio by egg output (FCR, g/g), corrected for mortality, egg output (EO, g/bird·d), methionine+cystine intake (mg/bird·d) and methionine+cystine deposition in egg (mg/bird·d).

The variables collected for egg quality were yolk weight (g), shell weight (g) and albumen height (mm). These data were collected on third, sixth and tenth week of the experiment, two days of week.

### ***Statistical analysis***

The data were analyzed for the assumptions of homoscedasticity of variance and normality of errors. To calculate the variables methionine+cystine deposition in egg (mg/bird·d) and methionine+cystine mobilization of BW (mg/bird·d) was used the values 13.02% (Batista and Garcia, 2003) and 162.3 g/kg (Silva, 2012) for protein of the egg and the body respectively. The methionine+cystine composition in egg used was 353 mg/g de nitrogen (Lunven and MARQ, 1973) and in body was 33.3 mg/g met+cys (Silva, 2012).

When detected an effect ( $P \leq 0.05$ ), regression analysis was applied using the broken line linear (BL) and quadratic polynomial (BLq) models. Methionine + cystine intake was calculated using the 1<sup>st</sup> intersection of the quadratic polynomial model with the broken line plateau.

## **RESULTS**

### ***Productive Performance***

The levels of methionine+cystine in diet significantly affected ( $P < 0.05$ ) the variables FI, methionine+cystine intake, EP, EW, EO, feed efficiency and methionine+cystine deposition in egg as shown in Table 2.

Digestible methionine+cystine levels influenced ( $P < 0.0001$ ) feed intake, which increased linearly (Table 2). The average consumption (82.6 g) was lower than the one provided

and expected (110g), which influences a lower intake of amino acids. The low feed consumption may be related to the high temperatures during the assay, reaching maximum values of 32.1°C.

Birds that consumed the lowest level of methionine+cystine in the diet (4.15 g of L-methionine per kg) reduced feed intake by 36.9% when compared to birds at the level of 6.63 g of L-methionine per kg.

Birds that were fed 4.15 g of methionine+cystine per kg of diet reduced amino acid intake by approximately 65.8%, when compared with the maximum value observed in treatments with 8.06 g of methionine+cystine per kg of diet.

Methionine+cystine limited diet of 4.15 g/kg also affected egg production in relation to the maximum value observed in treatments with 7.25 g of methionine+cystine per kg of diet. Egg weight was affected for the birds submitted to treatments with limited methionine+cystine of 4.47 g/kg, when compared to levels 6.63 g of methionine+cystine per kg of diet.

The maximum feed efficiency obtained was 0.54 or 54% feed conversion in egg mass. This value suggested that a lower dose, 7.25 g/kg, as it presented higher production and egg mass, in contrast to the level of 8.06 g /kg of methionine+cystine that showed the same feed efficiency, however this result was attributed to a reduction in feed consumption since there was no increase in egg production and mass.

### ***Egg quality***

Table 3 presents the values for internal quality of eggs in which the weight of the albumen was significantly affected ( $P<0.05$ ) by the levels of methionine+cystine used in the diet. Albumen weight had a linear ( $P=0.0089$ ) and quadratic ( $P=0.0007$ ) effect and the lowest level of methionine+cystine in the diet also had the lowest albumen weight.

### *Estimation of optimal intake to methionine+cystine*

Figure 1 shows the relationship between EO (g/bird per day) and the intake of methionine+cystine. The figure shows the predicted values of the linear-plateau (BL) and quadratic-plateau models (BLq) and observed values. The BL and BLq models estimated 533.4 mg/bird per day and 765.4 mg/bird per day for EO, respectively. The calculated value of the first interception of BLq on the plateau of the BL was 596.9 mg/bird per day which was considered the optimum level methionine+cystine intake for egg output in Hy-line Brown laying hens.

Table 4 shows the intake values and concentration of methionine+cystine for laying hens. The first intercept on the plateau obtained was 628.6 mg or 0.549% for feed intake, 592.5 mg or 0.611% for egg production, 625.6mg or 0.594% for egg weight.

## **DISCUSSION**

In the results of this study, there was a 36.9% drop in the consumption of birds fed with 4.15 g/kg of methionine+cystine, that is, methionine deficiency interferes with feed intake (Harper et al., 1970; Harms et al., 1998, Cadirci et al. 2014). Emmans (1981) suggests the theory of food regulation, in which birds tend to increase feed consumption to meet the daily requirements of the limiting amino acid. Thus, some authors concluded that birds are able to compensate for the methionine deficiency by consuming more feed (Waldroup and Hellwig, 1995; Moritz et al., 2005), but in the present study this fact did not happen, that is, all birds consumed less than the expected amount (110g), especially birds that received diets with lower levels of methionine+cystine.

Emmans (1981) also claims that intake cannot be increased indefinitely, being controlled by the density of the food and the animal need to remain in thermal equilibrium. Mueller (1959) demonstrated that laying hens consume less feed when they are in a high temperature environment (32°C) compared to birds that are in a low temperature environment (13°C).

In the study, egg weight and egg production were significantly affected in relation to the levels used. Egg production was reduced when amino acid intake was deficient, but egg weight did not change significantly. These results can be attributed to the physiological characteristics of the animal, in which the bird maintains a minimum egg weight to ensure the survival of the developing embryo (Morris and Gous, 1988; Bowmaker and Gous, 1991; Lima et al., 2018).

The low egg production in diets with reduced levels of sulfur amino acids, may be due to amino acid imbalance resulting in reduced protein synthesis, increasing catabolism and inhibiting the absorption of essential amino acids (Narváez-Solarte et al., 2005).

In relation to the internal quality of the eggs, the values of shell and albumen weight increased according to the increase in the level of methionine+cystine in the diet. Decreasing the intake of amino acids, such as methionine, significantly reduces albumen weight, in accord with studies found in the literature (Shafer et al., 1998; Novak et al., 2004). Shafer et al. (1996) reported an increase in albumen weight and egg weight when methionine intake was increased from 326 mg to 512 mg/dia. Togashi et al. (2002) found a quadratic effect of increasing the levels of the studied amino acid on the shell weight, what confirms the present study in which the shell weight showed a quadratic ( $P=0.0210$ ) and linear ( $P= 0.0015$ ) effect as increased the inclusion of methionine+cystine in the diet. This may be due to the fact that the shell consists of a protein matrix and the increased intake of sulfur amino acids may influence the protein synthesis of shell membranes (Novak et al., 2004; Moghaddam et al., 2012).

The optimal levels of methionine+cystine are shown in Table 4 and the values obtained by the BL model were lower is a function of the abrupt plateau and didn't consider the law of economic returns (Baker, 1986; Bendezu et al., 2015), whereas the BLq model provides us with higher values for nutritional requirements as it considers symmetrical responses to nutrient deficiency and excess. Therefore, intermediate values between the BL and BLq models were used, considering the first interception of BLq on the plateau of the BL present the values of the methionine+cystine requirements (Bendezu et al., 2015; Sakomura e Rostagno, 2007).

The optimal level for egg production found in the present study (0.611%) was lower than the value found by Sá et al. (2007) and higger than Togashi et al. (2002) determined 0.669% and 0.560% of methionine+cystine for laying hens, respectively. On the other hand, Geraldo et al. (2010), using Hy-line W-36 laying hens from 25 to 41 weeks of age, found a value of 0.735% of methionine+cystine in the diet.

For the egg mass variable, the level found was 0.632% of methionine+cystine in the diet, which is in agreement with the value found by Bendezu et al. (2015), who used the BL and BLq models and the dilution technique. Finally, the optimal value of methionine+cystine (0.594%) for egg weight was lower to the value found by Sá et al. (2007) of 0.693% and Cupertino et al. (2009) of 0.633%, but similar than the value found by Schmidt et al. (2009) of 0.591%.

## CONCLUSION

According to the results of this study, the recommendations of methionine+cystine to egg output was 596.9 mg/bird per day for Hy-line Brown laying hens, from 37 to 47 weeks of age.

## ACKNOWLEDGMENTS

The first author acknowledges the scholarship by the CAPES Foundation and the CJ BIO (CJ Cheiljedang, Seoul, South Korea) for donating the amino acids used in the assay.

## REFERENCES

- Baker, D. H. 1986. Problems and pitfalls in animal experiments designed to establish dietary requirements for essential nutrients. *J. Nutr.* 116:2339–2349.
- Batista, N. R., & Garcia, E. R. de M. (2015). Avaliação da composição química de ovos marrons: influência da idade da poedeira e do período de estocagem. *ANAIS DO ENIC*, 1(3).
- Bendezu, H. C. P., N. K. Sakomura, L. Hauschild, E. P. da Silva, J. C. de P. Dorigam, E. B. Malheiros, and J. B. K. Fernandes. 2015. Response of laying hens to methionine + cystine intake by dilution technique. *Rev. Bras. Zootec.* 44:15–21.
- Bowmaker, J. E., and R. M. Gous. 1991. The response of broiler breeder hens to dietary lysine and methionine. *Br. Poult. Sci.* 32:1069–1088.
- Bunchasak, C. 2009. Role of dietary methionine in poultry production. *J. Poult. Sci.* 46:169–179.
- Cadirci, S., S. Koncagul, and C. Mizrak. 2014. Möglicher Einfluss der täglichen Variation der Methioningehalte im Futter auf die Leistung von Legehennen in Abhängigkeit vom Körpergewicht. *Eur. Poult. Sci.* 78:1–11.
- Carvalho, G. B. De. 2017. Níveis e fontes de metionina na nutrição de frangos de corte. Tese de doutorado. UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS.
- Carvalho, T. S. M., L. S. Sousa, F. A. Nogueira, D. P. Vaz, M. M. Saldanha, M. V. Triginelli, M. F. V. S. Pinto, N. C. Baião, and L. J. C. Lara. 2018. 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. *Poult. Sci.* 97:2044–2052.
- Cupertino, E. S., P. C. Gomes, H. S. Rostagno, J. L. Donzele, M. Schmidt, and H. H. de Carvalho Mello. 2009. Exigência nutricional de metionina+cistina digestíveis para galinhas poedeiras de 54 a 70 semanas de idade. *Rev. Bras. Zootec.* 38:1238–1246.

- D'Mello, J. P. F. 1982. A Comparison of two Empirical Methods of determining Amino Acid Requirements. *Worlds. Poult. Sci. J.* 38:114–119.
- Dorigam, J. C., N. K. Sakomura, L. Soares, J. B. K. Fernandes, A. Sünder, and F. Liebert. 2017. Modelling of lysine requirement in broiler breeder hens based on daily nitrogen retention and efficiency of dietary lysine utilization. *Anim. Feed Sci. Technol.* 226:29–38 Available at <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.12.003>.
- Emmans, G. C. 1981. 3.3 A model of the Growth and Feed Intake of Ad Libitum Fed Animals, Particularly Poultry. *BSAP Occas. Publ.* 5:103–110.
- Fisher C. e Morris T. R. 1970. The Determination of The Methionine Requirement of Laying Pullets By A Diet Dilution Technique. *Br. Poult. Sci.* 11:67–82.
- Geraldo, A., A. G. Bertechini, E. J. Fassani, and P. B. Rodrigues. 2010. Níveis de metionina + cistina digestíveis em rações para poedeiras no pico de produção. *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.* 62:1216–1224.
- Gous, R. M. e Morris, T. R. 1985. Evaluation of a diet dilution technique for measuring the response of broiler chickens to increasing concentrations of lysine. *Br. Poult. Sci.* 26:147–161.
- Harms, R. H., G. B. Russell, H. Harlow, and F. J. Ivey. 1998. The influence of methionine on commercial laying hens. *J. Appl. Poult. Res.* 7:45–52.
- Harper, A. E., N. J. Benevenga, and R. M. Wohlhueter. 1970. Effects of ingestion of disproportionate amounts of amino acids. *Physiol. Rev.* 50:428–558.
- Leeville, G. A., and H. Fisher. 1959. Amino acid requirements for maintenance in the adult rooster. II. The requirements for glutamic acid, histidine, lysine and arginine. *J. Nutr.* 69:289–294.
- Lima, M. B., N. K. Sakomura, E. P. Silva, J. C. P. Dorigam, N. T. Ferreira, E. B. Malheiros, and J. B. K. Fernandes. 2018. The optimal digestible valine, isoleucine and tryptophan intakes of broiler breeder hens for rate of lay. *Anim. Feed Sci. Technol.* 238:29–38 Available at <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.02.001>.
- Lunven, P., and C. L. C. de S. MARCQ. 1973. Amino acid composition of hen's egg. *Br. J. Nutr.* 30.
- Martin, P. A., G. D. Bradford, and R. M. Gous. 1994. A Formal Method of Determining the Dietary Amino Acid Requirements of Laying-Type Pullets During Their Growing Period. *Br. Poult. Sci.* 35:709–724.
- McDonald, M. W., and T. R. Morris. 1985. Quantitative review of optimum amino acid intakes for young laying pullets. *Br. Poult. Sci.* 26:253–264.

- Moritz, J. S., A. S. Parsons, N. P. Buchanan, N. J. Baker, J. Jaczynski, O. J. Gekara, and W. B. Bryan. 2005. Synthetic methionine and feed restriction effects on performance and meat quality of organically reared broiler chickens. *J. Appl. Poult. Res.* 14:521–535 Available at <http://dx.doi.org/10.1093/japr/14.3.521>.
- Moghaddam, H.N., M. Kazemi Fard, M. J. Agah, S. J. Hosseini, and M. T. Mirakzahi. 2012. Effect of different levels of methionine, protein and tallow on the productive performance and egg quality of laying hens in the late-phase production. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 14:149–158.
- Morris, T. R., and R. M. Gous. 1988. Partitioning of The Response to Protein Between Egg Number and Egg Weight. *Br. Poult. Sci.* 29:93–99.
- Mueller, W. J. 1959. The Effect of Environmental Temperature and Humidity on the Calcium Balance and Serum Calcium of Laying Pullets. *Poult. Sci.* 38:1296–1301 Available at <http://dx.doi.org/10.3382/ps.0381296>.
- Narváez-Solarte, W., H. S. Rostagno, P. R. Soares, M. A. Silva, and L. F. U. Velasquez. 2005. Nutritional requeriments in methionine+cystine for white egg laying hens during the first cycle of production.
- Novak, C., H. Yakout, and S. Scheideler. 2004. The combined effects of dietary lysine and total sulfur amino acid level on egg production parameters and egg components in dekalb delta laying hens. *Poult. Sci.* 83:977–984 Available at <http://dx.doi.org/10.1093/ps/83.6.977>.
- Pillai, P.B., A. C. Fanatico, K.W. Beers, M.E. Blair and J.L. Emmert. 2006. Homocysteine remethylation in young broilers fed varying levels of methionine, choline, and betaine. *Poultry Science.* 85:90-95.
- Pinheiro, S. G., F. Guilherme, and P. Costa. 2021. Relação energia metabolizável: aminoácidos sulfurosos para aves leves nas fases de crescimento *Research, Society and Development*, v. 10, n. 4.
- Rostagno, H.S.; Albino, L.F.T.; Donzele, J.L.; Gomes, P.C.; Ferreira, A.S.; Oliveira, R.F.M.; Lopes, D.C.; Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa, MG. Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2017.
- Sá, L. M., P. C. Gomes, H. S. Rostagno, L. F. T. Albino, and C. C. C. Nascif. 2007. *Revista Brasileira de Zootecnia* Exigência nutricional de lisina digestível para galinhas poedeiras no período de 34 a 50 semanas de idade.
- Sakomura, N.K. & Rostagno, H.S., 2007. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. Jaboticabal: Funep. 283 p.

- Schmidt, M., P. C. Gomes, H. S. Rostagno, L. Fernando, T. Albino, R. V. Nunes, and A. A. Calderano. 2011. Revista Brasileira de Zootecnia Exigência nutricional de lisina digestível para poedeiras leves no segundo ciclo de produção:142–147.
- Shafer, D. J., J. B. Carey, J. F. Prochaska, and A. R. Sams. 1998. Dietary Methionine Intake Effects on Egg Component Yield, Composition, Functionality, and Texture Profile Analysis. *Poult. Sci.* 77:1056–1062 Available at <http://dx.doi.org/10.1093/ps/77.7.1056>.
- Shafer, D. J., J. B. Carey, and J. F. Prochaska. 1996. Effect of Dietary Methionine Intake on Egg Component Yield and Composition. *Poult. Sci.* 75:1080–1085.
- Silva, E. P. 2012. Modelos de crescimento e das respostas de frangas de postura submetidas a diferentes ingestões de aminoácidos sulfurados. Tese de doutorado. Unesp - Jaboticabal, SP.
- Silva, E. P. da, N. K. Sakomura, M. F. Sarcinelli, J. C. de P. Dorigam, K. S. Venturini, and M. B. de Lima. 2019. Modeling the response of Japanese quail hens to lysine intake. *Livest. Sci.* 224:69–74 Available at <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.04.005>.
- Siqueira, J. C., N. K. Sakomura, L. R. B. Dourado, J. M. B. Ezequiel, N. A. A. Barbosa, and J. B. K. Fernandes. 2013. Diet formulation techniques and lysine requirements of 1- to 22-day-old broilers. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 15:123–134.
- Togashi, C. K., J. B. Fonseca, T. Ribeiro, and R. D. T. R. N. Soares. 2002. Determinação de Níveis de Metionina + Cistina para Poedeiras Semi-pesadas Alimentadas com Rações contendo Levedura Seca (*Saccharomyces cerevisiae*). *Rev. Bras. Zootec.* 2002:1426–1433.
- Waldroup, P. W., and H. M. Hellwig. 1995. Methionine and total sulfur amino acid requirements influenced by stage of production. *J. Appl. Poult. Res.* 4:283–292.

Table 1: Composition (g/kg) of experimental diets.

<b>Ingredients</b>	<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>	<b>D5</b>	<b>D6</b>	<b>D7</b>
Grain Corn	673.67	673.67	673.67	673.67	673.67	673.67	673.67
Soybean Meal 46	182.80	182.80	182.80	182.80	182.80	182.80	182.80
Soy oil	9.80	9.70	9.40	9.20	9.00	8.80	8.50
Dicalcium phosphate	11.80	11.80	11.80	11.80	11.80	11.80	11.80
Fine limestone	31.80	31.80	31.80	31.80	31.80	31.80	31.80
Coarse limestone	60.30	60.30	60.30	60.30	60.30	60.30	60.30
Salt	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Sodium bicarbonate	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20	2.20
L-Methionine <sup>2</sup> (99%)	0.00	0.30	1.30	1.90	2.50	3.10	4.00
L-Lysine <sup>2</sup> (79%)	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
L-Threonine <sup>2</sup> (98%)	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
L-Tryptophan <sup>2</sup> (98.5%)	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
L-Valine <sup>2</sup> (98.5%)	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70	0.70
L-Isoleucine <sup>2</sup> (90%)	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80	0.80
L-Glutamic acid (98%)	9.00	9.00	8.80	8.70	8.60	8.40	8.20
L-Alanine (99%)	10.10	9.90	9.50	9.20	8.90	8.60	8.30
Choline Chloride 60%	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Diflubenzuron 25%	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Vitamin and mineral Premix <sup>1</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
<b>Total</b>	<b>1000.0</b>	<b>1000.0</b>	<b>1000.0</b>	<b>1000.0</b>	<b>1000.0</b>	<b>1000.0</b>	<b>1000.0</b>
<b>Concentration of nutrients</b>				<b>Analyzed</b>			
Crude fiber	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Crude protein	15.8	15.60	15.60	15.50	15.60	15.60	15.80
Potassium	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60
Sodium	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Calcium	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90	3.90
Phosphorus available	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30
Choline	1130	1130	1130	1130	1130	1130	1130
Linoleic acid	2.00	2.00	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90
MEn	2850	2850	2850	2850	2850	2850	2850
Lysine	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86
Methionine	0.18	0.20	0.30	0.40	0.50	0.50	0.60
Methionine+Cystine	0.37	0.39	0.48	0.53	0.59	0.64	0.71
Threonine	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58
Tryptophan	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27
Valine	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72	0.72
Isoleucine	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63

<sup>1</sup>Content/kg: folic acid – 200,00 mg; pantothenic acid – 5,000,00 mg; copper – 10,00 g; iron – 55,00 g; iodine – 1,000,00 mg; manganese – 70,00 g; selenium – 300,00 mg; niacin – 18,00 g; vit A -7,500,000,00 IU; vit B1 – 1,000,00 mg; vit B12 – 8,000,00 mcg; vit B2 – 3,000,00 mg; vit B6 – 500,00 mg; vit D3 – 2,500,000,00 UI; vit E 5,500,00 UI; vit K 1,500,00 mg; zinc 50,00 g.

<sup>2</sup>Products of CJ BIO (CJ Cheiljedang, Seoul, South Korea).

<sup>3</sup>MEn: Metabolizable energy corrected for nitrogen balance.

Table 2. Average responses to the dietary levels of methionine+cystine (g/kg) for daily feed intake (FI, g/hen), daily methionine+cystine intake (Met+Cys I, mg/hen), daily egg production (EP, %/hen), egg weight (EW, g), daily egg output (EO, g/hen), feed efficiency (FE, g/g), daily methionine+ cystine deposition in egg (Met+Cys D, mg/hen), average body weight (BW, g) of the Hy-Line Brown laying hens.

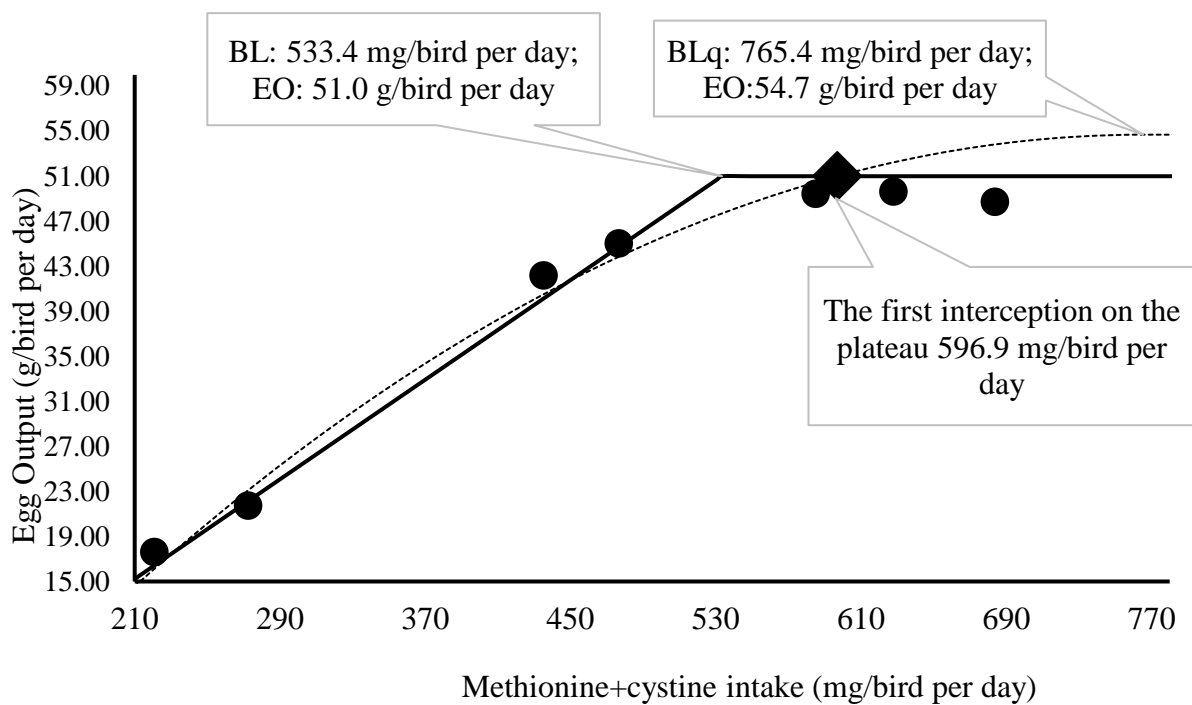
Level	FI	Met+Cys I	EP	EW	EO	FE	Met+Cys D	BW
4.15	59.7	247.7	32.5	53.6	17.6	0.3	129.5	1586.0
4.47	67.8	303.2	40.4	53.5	21.7	0.3	159.7	1626.4
5.39	88.1	474.9	72.5	58.1	42.2	0.5	310.1	1685.2
6.01	85.7	515.3	75.0	59.8	45.0	0.5	331.1	1681.9
6.63	94.7	627.8	82.5	60.0	49.4	0.5	363.4	1657.2
7.25	92.4	669.6	85.0	58.4	49.6	0.5	364.8	1667.2
8.06	89.9	724.3	81.1	59.9	48.7	0.5	358.1	1675.5
Average	82.6	509.0	67.0	57.6	39.2	0.5	288.1	1654.2
SEM <sup>1</sup>	10.8	143.2	17.5	2.3	11.2	0.1	82.0	27.4
<i>P</i> -value								
Level (L)	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.4731
Linear effect	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.1067
Quadratic effect	<.0001	0.0142	<.0001	0.0182	<.0001	0.0003	<.0001	0.1941

<sup>1</sup>SEM: standard error of the mean.

Table 3. Average responses to the dietary levels of methionine+ cystine (g/kg) for yolk weight (YW, g), shell weight (SW, g) and albumen weight (AW, g) of the Hy-Line Brown laying hens.

Level	YW	SW	AW
4.15	13.7	5.7	34.7
4.47	13.2	5.8	35.8
5.39	14.2	6.2	37.6
6.01	14.1	6.1	38.9
6.63	14.2	6.2	40.0
7.25	14.3	6.2	38.0
8.06	14.5	6.3	39.2
Average	14.0	6.1	37.7
SEM <sup>1</sup>	0.3	0.2	1.5
<i>P</i> -value			
Level (L)	0.0980	0.1059	0.0089
Linear effect	0.0590	0.0062	0.0007
Quadratic effect	0.7949	0.1750	0.0444

<sup>1</sup>SEM: standard error of the mean.



**Figure 1.** Relation between L-methionine plus cystine intake (mg/bird per day) and egg output (g/bird per day). —, Predicted values egg output by broken-line model (BL). ....., Predicted values egg output by quadratic broken line model (BLq). ●, Observed values ◆, Calculated value the first interception of BLq on the plateau of the BL.

Table 4: Methionine+Cystine requirements according to the models for daily feed intake, egg production, egg weight, egg output and feed conversion ratio of Hy-line Brown.

Variable	Methionine+Cystine intake (mg/bird per day)			Concentration in the diet
	Broken-line model (BL)	Quadratic broken-line model (BLq)	First interception of BLq on the plateau of the BL	%
Feed intake	586±26	744±48	628.6	0.549
Egg weight	534±58	737±69	625.6	0.594
Egg production	531±21	724±68	592.5	0.611
Feed conversion ratio	483±29	603±10	522.4	0.593
Egg output	533±20	765±39	596.9	0.632