

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

**GLUCONATO DE SÓDIO E FONTES DE METIONINA
SOBRE O DESEMPENHO, MORFOMETRIA INTESTINAL E
EXCREÇÃO DE NITROGÊNIO DE POEDEIRAS
COMERCIAIS.**

Patrícia de Cassia Andrade Marchizeli
Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Junho de 2009

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

**GLUCONATO DE SÓDIO E FONTES DE METIONINA
SOBRE O DESEMPENHO, MORFOMETRIA INTESTINAL E
EXCREÇÃO DE NITROGÊNIO DE POEDEIRAS
COMERCIAIS.**

Patrícia de Cassia Andrade

Marchizeli

Orientador: Prof. Dr. Otto Mack Junqueira

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.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Junho de 2009

M317g Marchizeli, Patrícia de Cassia Andrade
Gluconato de Sódio e fontes de metionina sobre o desempenho, morfometria intestinal e excreção de nitrogênio de poedeiras comerciais / Patricia de Cassia Andrade Marchizeli. -- Jaboticabal, 2009

xiii, 49 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009

Orientador: Otto Mack Junqueira

Banca examinadora: Lucio Francelino Araujo, Silvana Martinez Baraldi Artoni

Bibliografia

1. Aminoácidos sulfurados. 2. Metionina hidróxi análoga. 3. Poedeiras. 4. Trato intestinal. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 636.5:636.087

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: GLUCONATO DE SÓDIO E FONTES DE METIONINA SOBRE O DESEMPENHO, MORFOMETRIA INTESTINAL E EXCREÇÃO DE NITROGÊNIO DE POEDEIRAS COMERCIAIS.

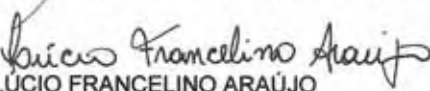
AUTORA: PATRICIA DE CASSIA ANDRADE MARCHIZELI

ORIENTADOR: Dr. OTTO MACK JUNQUEIRA

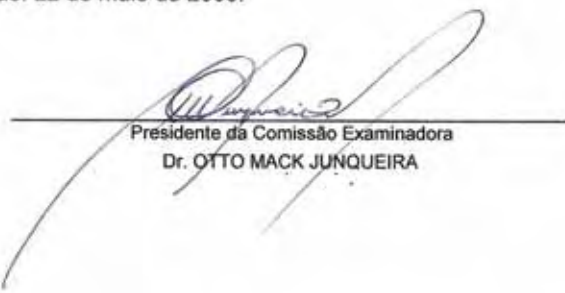
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE em ZOOTECNIA pela Comissão Examinadora:


Dr. OTTO MACK JUNQUEIRA


Dra. SILVANA MARTINEZ BARALDI ARTONI


Dr. LÚCIO FRANCELINO ARAÚJO

Data da realização: 22 de maio de 2009.


Presidente da Comissão Examinadora
Dr. OTTO MACK JUNQUEIRA

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Patrícia de Cassia Andrade Marchizeli, filha de Carlinho de Jesus Andrade e Fátima Aparecida Gonçalves Andrade, nasceu em 18 de Janeiro de 1982, na cidade de Analândia – SP.

Concluiu o primeiro grau na Escola Estadual Professor José Jorge Neto em 1996, no município de Analândia.

Formou-se Técnica em Processamento de Dados em 1999, pelo Colégio Diocesano La Salle concluindo o Ensino Médio, no município de São Carlos – SP.

Graduou-se em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias em dezembro de 2006, no município de Jaboticabal – SP.

Em março de 2007, ingressou no curso de Mestrado em Zootecnia, na área de Produção Animal e sub-área Nutrição de Monogástricos, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista, no município de Jaboticabal – SP.

*“Cada um de nós compõe a sua história e cada ser em si carrega o dom de ser capaz... de
ser feliz...”*

(Almir Sater)

DEDICO

A DEUS, minha fortaleza, a maior expressão de amor, sabedoria e vida. Guardiã em todos os momentos.

À minha família amada, meu alicerce, quem permitiu ser quem eu sou. Em especial ao meu pai, exemplo de força, trabalho e dignidade e à minha mãe querida, sinônimo de força, caráter e exemplo de mulher e amor para mim.

Dedico em especial ao meu amado marido, que me acompanha nesta trajetória há muitos anos. Paciente, compreensivo, perdoou minhas falhas e faltas. Exemplo de amor verdadeiro que me impulsiona para vencer e segue comigo.

A vocês, resumo todas as vitórias que consegui até o momento. Obrigada!

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por mais esta vitória em minha vida!

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal e Departamento de Zootecnia, por ter me permitido a realização da graduação e mestrado em Zootecnia, com bases sólidas para minha formação profissional.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão do auxílio à pesquisa e bolsa de estudos de mestrado.

Ao meu querido orientador, Otto Mack Junqueira, a quem agradeço de forma especial, por todos os conhecimentos transmitidos, tanto na área profissional como pessoal. Obrigada pela alegria desmedida, paciência, confiança e amizade verdadeira.

Às professoras Silvana M. B. Artoni e Laura S. O. Nakaghi, que fizeram parte de minha banca examinadora de qualificação e muito contribuíram para as correções deste trabalho.

Aos professores Lúcio L. F. Araújo e Silvana M. B. Artoni, por terem aceitado o convite de participar de minha banca examinadora da defesa desta dissertação e por terem contribuído de forma tão especial quanto às correções e melhor desenvolvimento deste trabalho.

Aos companheiros do Setor de Avicultura, funcionários, amigos e estagiários em especial à Sarah, Fernanda, Adriana, Bárbara, Carla, Máira, Reginaldo, Vicente, Isildo, Robson e Flávio, por terem me auxiliado tanto durante meu experimento e por terem feito do período em que estivemos juntos, momentos agradáveis.

Ao Jefferson, pela disponibilidade em me auxiliar com as análises estatísticas.

Aos funcionários da fábrica de ração, Sandra, Hélio e Sr. Orlando, pela colaboração, brincadeiras e broncas, descontraíndo o ambiente de trabalho.

Aos amigos companheiros de encontros de quarta-feira, e depois "de vez em quando" Mel, Futum e Sardinha.

A todos os amigos que não estiveram presentes durante o mestrado, mas que de alguma forma estavam torcendo por mim, em especial a Mel, Reduzida, Korínga, K-pão, Futum, Samíra, Fernanda e André.

De forma especial agradeço ao amigo Danísio Prado Munari, que acompanhou todo meu desenvolvimento acadêmico e se alegra com mais esta etapa cumprida.

Aos meus cavalos que me proporcionam horas de lazer e descanso.

Enfim, a todos que de alguma forma, colaboraram para que este trabalho se realizasse da melhor maneira possível.

SUMÁRIO

RESUMO.....	01
ABSTRACT.....	02
1- INTRODUÇÃO.....	03
2- OBJETIVO.....	04
3 – REVISÃO DA LITERATURA.....	05
3.1- Gluconato de sódio.....	06
3.2- Metionina.....	07
3.3- Gluconato de sódio x metionina.....	11
3.4- Desenvolvimento e propriedades da mucosa intestinal.....	11
3.5- Metabolismo dos aminoácidos metionina+cistina em aves.....	13
3.6- Efeito de níveis de metionina+cistina sobre o desempenho produtivo de poedeiras.....	14
3.7- Efeitos de níveis de metionina+cistina sobre a qualidade dos ovos de poedeiras.....	15
4 - MATERIAL E MÉTODOS.....	17
4.1 – Instalação, aves e manejo.....	17
4.2 - Rações experimentais.....	18
4.3 - Parâmetros avaliados.....	19
4.3.1 - Parâmetros de desempenho das aves.....	19
4.3.2 - Parâmetros de qualidade dos ovos.....	20

4.3.3 - Ensaio de metabolismo.....	21
4.3.4 - Morfometria do duodeno.....	22
4.3.5 - Análise estatística	24
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
5.1- Consumo alimentar.....	29
5.2- Produção, peso e massa de ovo.....	30
5.3- Conversão Alimentar.....	34
5.4- Qualidade interna e externa dos ovos.....	35
5.5-Morfometria do duodeno e ensaio de metabolismo.....	36
6 – CONCLUSÃO.....	41
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

TÍTULO: GLUCONATO DE SÓDIO E FONTES DE METIONINA SOBRE O DESEMPENHO, MORFOMETRIA INTESTINAL E EXCREÇÃO DE NITROGÊNIO DE POEDEIRAS COMERCIAIS

RESUMO - O presente estudo teve por objetivo avaliar o efeito do uso do gluconato de sódio e duas fontes de metionina em rações com diferentes níveis de metionina + cistina sobre o desempenho, qualidade dos ovos, integridade da mucosa intestinal e a excreção de nitrogênio de poedeiras comerciais. Foram utilizadas 480 poedeiras da linhagem Isa Brown, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 2 (5 níveis de metionina+cistina com 2 níveis de gluconato de sódio), e para estudar o efeito do gluconato de sódio sobre as duas fontes de metionina estudadas, optou-se por um esquema fatorial 2 x 2 (dois níveis de gluconato de sódio e duas fontes de metionina), com 5 repetições de 8 aves cada. As variáveis foram submetidas à análise de variância e posteriormente (em caso de significância estatística $<0,001$) realizadas análises de regressão pelo modelo polinomial linear e quadrático (SAS, 2002). A exigência de metionina+cistina para o melhor desempenho das poedeiras foram de 0,753% para consumo de ração, 0,738% para a produção de ovos, 0,758% para massa de ovos e 0,703% para conversão alimentar. As fontes de metionina não revelaram diferenças estatísticas. Conclui-se que o uso do gluconato de sódio não expressou resultado significativo estatisticamente nas variáveis analisadas, no entanto, a produção e massa de ovos, a conversão alimentar e a integridade intestinal mostraram-se com tendência de melhora.

Palavras-chave: aminoácidos sulfurados, metionina hidróxi-análoga, prebiótico, trato intestinal, poedeiras

TITLE: SODIUM GLUCONATE AND METHIONINE SOURCES ON THE PERFORMANCE, INTESTINAL MORPHOMETRY AND NITROGEN EXCRETION OF COMMERCIAL LAYING HENS

ABSTRACT – One experiment was conducted to evaluate the effect of sodium gluconate and two sources of methionine and different levels of methionine + cystine in laying hens diets, one egg quality, intestinal mucosal integrity and nitrogen excretion. It was used 480 Isa Brown laying hens, distributed at range in a factorial design 5 x 2 (5 levels of methionine + cystine with 2 levels of sodium gluconate), and to study the effect of sodium gluconate on two sources of methionine, it was chosen a factorial design 2 x 2 (two levels of sodium gluconate and two sources of methionine), with 5 repetitions of 8 hens each. Variables were submitted to analyses of variance and subsequent (when the test had significant effect $< 0,001$) related regression analyses by linear and quadratic polynomial model (SAS, 2002). The requirement of methionine + cystine for better performance of laying hens were 0,753% for feed intake, 0,738% for egg production, 0,758% for egg mass and 0,703% for feed conversion. The sources of methionine did not show statistical difference. It was concluded that the use of sodium gluconate did not express significant statistical result in variables analyzed, however, egg production and mass, feed conversion and intestinal mucosal integrity tended to be better.

Keywords: sulphur aminoacids, OH methionine, prebiotics, intestinal tract, laying hens.

1. INTRODUÇÃO

A produção de poedeiras nos últimos anos teve crescimento acentuado, e diversas pesquisas vem sendo conduzidas para melhor entender as exigências destas aves.

Os avanços genéticos das poedeiras comerciais as tornaram mais precoces e produtivas, e segundo JORDÃO FILHO et al. (2003), a cada quatro ou cinco anos, são lançadas no mercado linhagens mais eficientes na conversão dos nutrientes consumidos. Com isso, justificam-se as constantes revisões de suas necessidades nutricionais, estimando com maior precisão suas exigências em aminoácidos além das alternativas ao uso de prebióticos para garantir a integridade da mucosa intestinal com o objetivo de melhorar a eficiência de absorção e utilização dos nutrientes.

Os aminoácidos sulfurados são utilizados pelas aves como constituintes estruturais primários de tecidos como pele, penas, matriz óssea, ligamentos, órgãos e músculos corporais (NRC, 1994).

A metionina é o principal doador de grupo metil (S-adenosilmetionina) para as diversas reações metabólicas, além de participar diretamente da síntese protéica (LEESON e SUMMERS, 2001). Pode ser uma fonte alternativa de cistina num processo não reversível, com função especial na estrutura de muitas proteínas interligando cadeias polipeptídicas através de pontes dissulfeto (NELSON e COX, 2006). Segundo PETERSEN et al. (1983), o controle da ingestão de metionina poderá evitar o aumento do peso dos ovos e garantir sua qualidade externa.

O gluconato de sódio, segundo SORIANO-GARCÍA et al., (1998), pode ter a finalidade de aumentar a absorção da metionina pela mucosa intestinal, melhorando o aproveitamento desse aminoácido pelo animal.

2. OBJETIVO

Em virtude do gluconato de sódio, ser considerado um prebiótico e possível carreador da metionina, o presente estudo teve por objetivo avaliar o seu efeito adicionado a duas fontes de metionina em rações com diferentes níveis de metionina + cistina sobre o desempenho, qualidade interna e externa dos ovos, integridade da mucosa intestinal e excreção de nitrogênio de poedeiras comerciais.

3. REVISÃO DA LITERATURA

A necessidade de aumentar a produtividade na avicultura a um baixo custo levou ao uso, durante muito tempo, dos antibióticos promotores de crescimento. Porém, com a possibilidade de ocorrência de resistência a esses antibióticos pelo ser humano, a população mundial tornou-se cada vez mais exigente em relação aos produtos que a indústria oferece ao mercado.

Com isso, a avicultura busca novas alternativas para a substituição dos antibióticos promotores de crescimento. Dentre as alternativas encontra-se o uso dos probióticos, prebióticos, extratos herbais, ácidos orgânicos, além de outros.

Quanto aos ácidos orgânicos, os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como o acetato, propionato e butirato, são os principais produtos da fermentação no intestino grosso de não ruminantes (SAKATA, 1995). Os AGCC são rapidamente absorvidos pela mucosa intestinal, fornecendo energia às células epiteliais (MACFARLANE & GIBSON, 1995).

Sabe-se que o butirato é considerado o ácido graxo de cadeia curta mais eficiente, pois além de ser a maior fonte de energia para as células, estimula a produção de muco, a proliferação de células epiteliais e aumenta a absorção de água e sais no lúmen intestinal (TSUKAHARA et al. 2002).

Estudos têm mostrado que o gluconato de sódio estimula a produção de butirato e, portanto, é considerado um prebiótico de relevância para aves e suínos. (TSUKAHARA et al. 2002; BIAGI et al., 2006). GIBSON e ROBERFORID (1995) definiram prebióticos como ingredientes alimentares não digeríveis que afetam benéficamente o hospedeiro, estimulando seletivamente o crescimento e atividade de uma ou mais bactérias benéfica do colon, melhorando a saúde do seu hospedeiro. A principal ação dos prebióticos é estimular o crescimento e/ou ativar o metabolismo de algum grupo de bactérias do trato intestinal. Portanto, segundo esses autores, para que um componente do alimento seja considerado um prebiótico, este não pode ser hidrolisado ou absorvido nos segmentos iniciais do trato digestório, deve ser capaz de alterar a microbiota intestinal, favorecendo uma composição mais saudável e induzir efeitos benéficos sistêmicos na luz intestinal.

3.1. Gluconato de Sódio

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a Resolução - RDC nº 234, de 19 de agosto de 2002 que aprovou a tabela de aditivos para complementação do "Regulamento técnico sobre aditivos utilizados segundo as boas práticas de fabricação e suas funções", o Gluconato de Sódio ($C_6H_{11}O_7Na$), é considerado um aditivo sequestrante que forma complexos químicos com íons metálicos e ultimamente utilizado na nutrição animal na preparação de premixes e aditivos para nutrição animal.

O gluconato de sódio é derivado da oxidação incompleta da glicose por colônias de gluconobactérias. Essas bactérias são estritamente aeróbias e utiliza uma variedade de açúcares e álcoois como substrato para serem oxidados. Desta forma, as gluconobactérias possuem a habilidade de converter D- glicose em D- gluconato, no qual pode ser oxidado a 2-cetogluconato e 2,5-dicetogluconato. Seu crescimento ótimo é em temperatura de 25 a 30 °C e pH entre 5,5 a 6.0 (DEPPENMEIER et al., 2002).

O gluconato de sódio favorece o crescimento de forma seletiva, de certos microrganismos benéficos capazes de proporcionar um ambiente saudável ao hospedeiro, estimulando o desenvolvimento da mucosa intestinal, ou seja, ativa o processo mitótico na região cripta-vilo, e como consequência, aumenta o número de células epiteliais e altura dos vilos. (POEIKHAMPHA et al., 2007). Este desenvolvimento é importante para a absorção de nutrientes, visto que aumenta a área absorptiva.

O gluconato de sódio tem sido utilizado como um prebiótico em suínos estimulando a produção de butirato no intestino grosso (TSUKAHARA et.al, 2002).

Aproximadamente 70% do gluconato de sódio ingerido são direcionados para o intestino grosso, sendo fermentado por bactérias benéficas, como os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, (ASANO et al., 1994) cujo produto final da fermentação é o lactato e o acetato, que serão convertidos em butirato por bactérias que utilizam ácidos. (TSUKAHARA, et al., 2002, HASHIZUME, et al., 2003).

Sabe-se que além do butirato ser considerado o AGCC mais eficiente, estudos têm mostrado que também possui efeito antitumoral no intestino grosso de ratos, prevenindo o câncer colon-retal. Isso ocorre pela capacidade do butirato

de inibir a proliferação de células cancerosas, por induzir a apoptose de células geneticamente modificadas (KAMEUE et.al,2004).

Muitos carboidratos indigestíveis chegam ao intestino grosso, porém são poucos que estimulam a produção de butirato. Sendo assim, o uso do ácido glucônico ou gluconato de sódio na dieta tem sido uma alternativa viável para estimular a produção de butirato no intestino grosso de aves e suínos, podendo ser usado como prebiótico.

BIAGI et. al., (2006), POEIKHAMPHA et. al., (2007) estudaram os efeitos do gluconato de sódio em rações para suínos e observaram melhora na qualidade intestinal e conseqüentemente, uma melhora no desempenho destes animais.

O presente trabalho é pioneiro na pesquisa com gluconato de sódio associado a rações de aves.

3.2. Metionina

As dietas práticas são formuladas, principalmente, à base de milho e farelo de soja, suprimindo as necessidades de proteína sem, contudo, suprir as exigências em metionina e aminoácidos sulfurados, obrigando à utilização de metionina sintética. A metionina é o mais limitante aminoácido essencial nas dietas de frangos de corte e poedeiras e sua adição sob a forma sintética, constitui parcela significativa no custo das dietas (SCHUTTE et al., 1994). De acordo com RODRIGUES et al., (1996) o custo final da ração onera em, aproximadamente 5%.

Com o aparecimento dos hidróxi análogos de metionina, esses custos diminuíram, mas existe muita controvérsia quanto à bioequivalência desses análogos, que estão sendo utilizados pelos nutricionistas nas suas formulações, variando desde 65 até 100% tanto na bioequivalência, como na consideração ou não da equimolaridade, o que evidencia a falta de critério para a substituição da DL-metionina pelos análogos.

Numerosos estudos têm sido conduzidos para comparar a eficácia da DL-metionina e da metionina hidróxi análoga em frangos. Porém, para poedeiras estes estudos são mais restritos.

A inclusão do aminoácido metionina, nas dietas de frangos de corte, iniciou-se a partir da década de 70. As fontes deste aminoácido encontradas em escala

industrial hoje no mercado são: o ácido DL-2-amino-4 (metiltio) butanóico (DL-Met) e o ácido DL-2-hidroxi-4 (metilo) butanóico, mais conhecido como metionina hidróxi análoga (MHA-FA).

A primeira referência conhecida sobre o emprego de metionina hidróxi análoga foi no trabalho de BLOCK & JACKSON (1932), em ratos alimentados com dieta deficiente em cistina, quando foi observado que a MHA-FA estimulava o crescimento. Desde então, começou-se a pesquisar sobre fontes análogas de metionina e, com isto, muitas controvérsias surgiram em torno da bioeficácia desses análogos. Os análogos diferenciam-se da metionina por apresentarem um grupamento hidroxila (OH) no lugar do grupamento amina (NH₂), localizado no carbono alfa da molécula.

Quando na forma líquida, a hidróxi análoga apresenta-se como um ácido (ácido 2-hidróxi, 4-metiltiobutírico- MHA-FA) e, na forma de pó, como um sal de cálcio. Todas as três substâncias têm dois isômeros (L e D), pois suas moléculas têm o carbono alfa assimétrico, ou seja, apresentam quatro ligantes diferentes. Esta propriedade é importante, pois as aves só utilizam o isômero L da metionina na síntese protéica. Assim, os isômeros D das fontes metionínicas deverão ser transformados em L.

A absorção intestinal e a excreção urinária são dois processos fisiológicos que podem limitar o uso das fontes de metionina. A DL-Met é absorvida de maneira ativa, o que permite que seja transportada contra um gradiente de concentração. Após a absorção, a L-Met não precisa sofrer qualquer alteração para ser usada na síntese das proteínas, entretanto a D-Met e os isômeros da MHAFA deverão sofrer alterações de tal forma que, após transformações metabólicas, resultam também em L-Met e que somente nesta forma podem ser incorporadas em qualquer proteína. DIBNER & KNIGHT (1984) observaram que, no fígado de aves bem como em outros tecidos, têm sido encontradas enzimas capazes de oxidar os dois isomêros, D e L de MHA-FA. Após a oxidação da D-Met e dos isomêros de MHA-FA, eles são transformados em L-Met por transaminação. DIBNER (1983) utilizou a MHA-FA como substrato para síntese protéica, em um estudo com culturas primárias de células do fígado de aves e concluiu que MHA-FA e a DL-Met são bioquimicamente equivalentes como fontes de metionina para

síntese de proteínas visto que as duas fontes foram encontradas em quantidades similares nas proteínas do fígado.

Estudando a absorção intestinal da MHA-FA, DIBNER et al. (1988) concluíram que a proporção de incorporação da MHA-FA, na proteína, é similar a outros análogos da metionina. Os autores concluíram que não deve ser na transformação da MHA-FA em L-Met as dificuldades na substituição da metionina por seus análogos.

Conforme BOEBEL & BAKER (1982), não seria apenas a composição da dieta basal que influenciaria a eficiência da utilização da MHA-FA, mas as diferenças nos níveis da metionina dietética e o total dos aminoácidos sulfurados contidos na dieta basal. Eles enfatizam que, em dietas tipo milho e soja, nas quais proteínas intactas suprem a maioria das necessidades das aves em aminoácidos sulfurados, pequena quantidade da metionina suplementar seria necessária e, desta forma, as diferenças entre as fontes de metionina seriam pouco evidenciadas.

LIU et al. (2004a) realizaram um experimento com poedeiras comerciais pós-muda para estimar a biodisponibilidade da MHA-FA em relação à DL-Met, utilizando cinco níveis de suplementação (0,012; 0,024; 0,036; 0,048 e 0,060%) de DL-Met ou MHA-FA em base equimolar, em uma ração basal contendo 14,97% de proteína bruta e 0,27% de metionina. Não foram encontradas diferenças significativas ($P > 0,05$) em consumo de ração entre as aves alimentadas com DLM e as que receberam MHA-FA. A análise de regressão mostrou que a biodisponibilidade da MHA-FA em relação à DLM em base molar foi 88,7% (produção de ovos), 88,0% (massa de ovos) e 84,6% (peso dos ovos) com o modelo exponencial e com o modelo "slope ratio" foi de 89,7% (produção de ovos), 89,6% (massa de ovos) e 86,8% (peso dos ovos). A biodisponibilidade média de MHA-FA em relação à DLM foi 88% em base molar.

Esses mesmos autores (LIU et al., 2004b), baseados em cinco modelos de regressão, encontraram as biodisponibilidades médias da MHA-FA em relação à DLM de 122% para produção de ovos, 109% para massa de ovos e 89% para peso de ovo na base peso ou 139% para produção de ovos, 124% para massa de ovos e 101% para peso de ovo, na base molar. A biodisponibilidade da MHA-FA em relação à DLM mostrou não ser significativamente diferente ($p > 0,05$) de 88%

na base peso ou 100% na base molar, mas foi significativamente diferente ($p < 0,05$) de 65% na base peso ou 74% na base molar.

Por outro lado, REID et al (1982), compararam a eficiência da DL-met, MHA e MHA ácida, relatando que não houve diferença significativa entre estas três fontes de metionina. O mesmo resultado se repetiu com HARMS et al, 1993, que não encontraram diferenças significativas entre as fontes de metionina estudadas. O melhor desempenho das poedeiras foi obtido, assumindo que a biodisponibilidade da MHA foi de 65% (LIU et al., 2005).

HAN et al. (1990), em trabalhos experimentais com frangos de corte machos, encontraram uma retenção para a DL-Met de aproximadamente 100% e para a DL-MHA-FA desde 96 a 99%, os quais afirmam que diferenças de biodisponibilidade entre DL-Met e DL-MHA- FA-Ca não podem ser devido às diferenças de absorção entre elas. Estes autores, usando galos cecotomizados, identificaram que uma pequena quantidade de MHA-FA-Ca pode ser absorvida no ceco ou usada pela microflora cecal. Já a DL-Met é totalmente absorvida no intestino delgado. Por outro lado, DIBNER et al. (1988) mostraram que a MHA-FA é absorvida em todo o trato digestivo, inclusive no ceco.

De acordo com BLAIR et al. (1999), a suplementação com os hidróxi análogos também é uma alternativa para reduzir a excreção de nitrogênio. KIM et al. 2006, também afirmaram que quando a dieta das aves é suplementada com os hidróxi análogos, a sua eficiência de utilização é muito importante em relação à redução da excreção de nitrogênio e melhora do desempenho da ave, além de diminuir a poluição ambiental.

3.3. Gluconato de Sódio x Metionina

A qualidade do epitélio intestinal é de fundamental importância para o bom desenvolvimento das aves. Assim, a utilização de aditivos, que melhora a condição intestinal, é uma alternativa para a avicultura. O gluconato de sódio proporciona uma síntese adequada de butirato e conseqüentemente promove um ambiente intestinal saudável, aumentando a área de absorção e como conseqüência, o aproveitamento dos nutrientes, resultando em melhor conversão alimentar, que é a unidade de mensuração mais adequada na produtividade

animal. Ainda, é considerado um carreador no transporte da metionina no trato intestinal.

Segundo SORIANO-GARCÍA et al., (1998), o gluconato de sódio pode ter a finalidade de aumentar a absorção da metionina pela mucosa intestinal, melhorando o aproveitamento desse aminoácido pelo animal. Este foi o único trabalho científico encontrado na literatura.

A biodisponibilidade da MHA é menor que a DI-metionina, o uso do gluconato de sódio como aditivo para melhorar a absorção da metionina (SORIANO-GARCIA et al. 1998) pela mucosa intestinal é de grande importância para o melhor desempenho das aves, além de melhorar a qualidade intestinal.

3.4. Desenvolvimento e propriedades da mucosa intestinal

O desenvolvimento da mucosa intestinal consiste no aumento da altura e densidade dos vilos, o que corresponde a um aumento em número das células epiteliais (enterócitos, células caliciformes e enteroendócrinas). Esse processo decorre primariamente de dois eventos citológicos associados: renovação celular e perda de células. O equilíbrio entre esses dois processos chama-se “turnover” celular. A mucosa do trato gastrointestinal tem uma característica única entre os tecidos da ave que é a de ter a mais alta taxa de turnover de todos tecidos do corpo. É importante salientar que, ao longo da extensão do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo), a densidade e o tamanho dos vilos, bem como a taxa de renovação celular, não são os mesmos. O duodeno, além de possuir maior altura do vilos, também tem a maior taxa de renovação da mucosa intestinal. Esse rápido turnover duodenal pode ser explicado pelo fato de ser essa uma das regiões mais importantes para o processo digestivo das aves, pois é onde ocorre a liberação das secreções biliar e pancreática exógenas. É também o primeiro segmento do intestino a receber estímulos físicos, químicos e hormonais desencadeados pela presença dos nutrientes no lúmen (MAIORKA et al 2002).

A presença de alimento no lumen intestinal é fator estimulante do crescimento dos vilos e das criptas. Utilizando-se caulin, para avaliar o efeito do estímulo físico do alimento sobre o desenvolvimento da mucosa (TARACHAI & YAMAUCHI, 2000) verificaram que a mucosa intestinal parece não responder

unicamente ao estímulo físico. Ao mesmo tempo, esses autores também verificaram que na presença de nutrientes, o lúmen intestinal apresenta maior desenvolvimento, traduzido pela maior altura dos vilos e maior taxa de turnover. Esses dados sugerem que o estímulo primário para o desenvolvimento da mucosa são as características químicas dos nutrientes. Tem sido estimado que, para a manutenção do epitélio intestinal e estruturas de suporte anexas, o custo em energia representa aproximadamente 20% da energia bruta consumida pela ave (MCBRIDE e KELLY, 1990, citado por MAIORKA et al, 2002). Desta forma, a manutenção da mucosa intestinal em condições fisiológicas normais, tem custo energético elevado para a ave. Quando ocorrem lesões, além da redução da quantidade de substrato digerido e absorvido, há ainda o custo para a renovação desse epitélio. A energia economizada pelo reduzido turnover de células no epitélio intestinal poderá ser utilizada para o desenvolvimento da massa muscular. Assim, o rendimento econômico do lote estará seriamente comprometido quando a mucosa do trato gastrintestinal for afetada.

Esse desenvolvimento acentuado na capacidade funcional do trato gastrintestinal, logo após a eclosão, parece ser comum às aves domésticas, ocorrendo pequenas variações entre as diferentes linhagens. Em poedeiras comerciais, por exemplo, o aumento na altura dos vilos e profundidade de cripta é mais intenso no duodeno nos primeiros 6 dias de vida pós eclosão, e aos 10 dias no jejuno e íleo (UNI et al 1998 citado por MAIORKA et al 2002).

3.5. Metabolismo dos aminoácidos metionina+cistina em aves

O processo digestivo das proteínas nas aves tem início efetivo no proventrículo, onde ocorre secreção de ácido clorídrico e enzimas digestivas que promovem a quebra parcial das moléculas protéicas. Na moela, a ingesta sofre ação mecânica, além de ser misturada com os fluídos secretados pelo proventrículo. No intestino ocorre secreção de diversas enzimas pelo pâncreas promovendo a disponibilidade de pequenos peptídeos que são absorvidos pelas células da mucosa intestinal através de transporte ativo envolvendo o íon sódio, com diferentes sistemas carreadores para os vários grupos de aminoácidos (LEESON e SUMMERS, 2001). Após absorvidos, os aminoácidos são

transportados para o fígado, principalmente pela veia porta, sendo uma pequena quantidade pela via linfática. No fígado parte dos aminoácidos é fixada pelas células hepáticas e o restante é liberado na corrente sanguínea formando um pool extracelular de aminoácidos livres. Nos tecidos após absorvidos pelas células, são convertidos em outros metabólitos ou ligam-se a um RNAt específico para serem utilizados na síntese protéica no ribossomo (RATHMACHER, 2000). A excreção de aminoácidos é condicionada primeiramente à sua desaminação, onde o esqueleto carbono originado é reaproveitado e o grupo amino usado na síntese do ácido úrico que é retirado da corrente sanguínea e secretado via urina nos túbulos renais (LEESON e SUMMERS, 2001).

Dos mais de vinte aminoácidos constituintes das proteínas, praticamente a metade destes são considerados aminoácidos essenciais, devendo ser fornecidos à dieta, e o restante, os não essenciais podem ser produzidos pelas aves em quantidades suficientes pelo organismo. MENDONÇA (1996) comenta que para o máximo desempenho produtivo de galinhas poedeiras é necessário aporte protéico baseado nas exigências em aminoácidos essenciais, particularmente lisina e metionina+cistina.

Em rações a base de milho e farelo de soja, a metionina é o primeiro aminoácido limitante para a síntese protéica e importante doador de grupo metil no metabolismo para outras funções (SMITH, 1983).

A metionina tem um papel importante no metabolismo de fosfolípidos e sua deficiência é conhecida por causar prejuízos renais e hepáticos. Entretanto, a administração de doses excessivas deste aminoácido representa risco de fígado gorduroso (PARR & SUMMERS, 1991).

A cistina é um aminoácido glicogênico e não-essencial produzido a partir da metionina no organismo. A cistina interage com a cisteína em uma reação de transformação mútua do tipo oxi-redução. A ingestão de cistina ou cisteína pode reduzir as necessidades nutricionais de metionina. A cistina é necessária para a formação da pele, penas e pêlos. Além do mais, é sabido que estimula o sistema hematopoiético e promove a formação de glóbulos brancos e vermelhos. Quando metabolizada, a cistina fornece o ácido sulfúrico, que reage com outras substâncias para ajudar a desintoxicar o sistema orgânico. A cistina contribui com o processo de cicatrização, diminuindo a dor causada pela inflamação e fortalece

a formação de tecido conjuntivo. O enxofre necessário para a biossíntese da cisteína provém do aminoácido essencial metionina.

3.6. Efeito de níveis de metionina+cistina sobre o desempenho produtivo de poedeiras

Depois da energia, os ingredientes protéicos são os mais caros e um dos principais nutrientes presentes na dieta, cuja eficiência de utilização depende da quantidade, da composição e da digestibilidade de seus aminoácidos, os quais são exigidos em níveis específicos pelas aves (DALE, 1994). Muitos pesquisadores têm reportado que a adição de metionina industrializada a dietas com baixo teor de proteína promove resultados econômicos satisfatórios (COMBS, 1964; HARMS & MILES, 1988; WALDROUP & HELLWIG, 1995).

Os níveis de aminoácidos na ração, especialmente aqueles que compõem os aminoácidos sulfurados são importantes por influenciar o tamanho dos ovos (HARMS e RUSSEL, 1993).

NARVÁEZ-SOLARTE (1996) estimou as exigências de metionina+cistina em 679 mg/ave/dia para produção de ovos, 675 mg/ave/dia para peso médio e 679 mg/ave/dia para massa de ovos de poedeiras semipesadas.

CUPERTINO (2006) verificou diferentes níveis de consumo de metionina + cistina digestíveis para poedeiras semipesadas. Para conversão alimentar de 747 mg/ave/dia, 718 mg/ave/dia para produção de ovos e 723 mg/ave/dia para massa de ovos.

3.7. Efeitos de níveis de metionina+cistina sobre a qualidade dos ovos de poedeiras.

A avicultura de postura comercial registra perdas econômicas significativas devido aos problemas na qualidade dos ovos. Os atributos de qualidade externa são caracterizados pela forma, limpeza e integridade da casca. A perda de ovos, associada à baixa qualidade de casca, aumenta com o avanço da idade. Além da característica da casca, também as características internas apresentam grande valor quando se trata de qualidade de ovos. Para os consumidores a qualidade

dos ovos está relacionada não somente com a resistência da casca, mas também com as características sensoriais e com a composição nutricional dos ovos. Para a indústria de processamento de ovos, qualidade de ovos está relacionada com as propriedades funcionais dos componentes internos dos ovos, principalmente do que diz respeito ao volume e a consistência do albúmen. LEESON e SUMMERS (2001) descrevem que o ovo contém 12% de proteína bruta, sendo que 42% da gema, 55% do albúmen e 3% da casca são proteínas e que estas moléculas possuem perfis aminoacídicos diferentes.

A composição química do albúmen do ovo é bastante estável e difícil de ser modificada nutricionalmente. Isto se deve em função de seus componentes serem segregados pelas células epiteliais do oviduto. Assim, uma alternativa nutricional da ração, não modifica de forma substancial sua composição, porém pode alterar a relação gema/albúmen (MATEOS, 1991).

Diversas pesquisas realizadas com o objetivo de avaliar e correlacionar medidas dos componentes internos do ovo como atributo de sua qualidade interna, sugeriram algumas medidas, e dentre elas, encontra-se a unidade Haugh (FERNANDES et al., 1983). A medida de unidade Haugh é baseada numa relação entre a altura do albúmen e o peso do ovo, muito utilizada como medida de qualidade interna dos ovos.

BETERCHINI et. al. (1995) trabalhando com poedeiras comerciais semipesadas na fase de pico de produção, verificaram que o aumento de aminoácidos sulfurosos totais na ração (0,545; 0,595; 0,645; 0,695 e 0,745%) provocaram redução linear nos valores de unidade Haugh (100,6; 97,5; 96,1; 95,7 e 93,5).

PENZ JR. e JENSEN (1991) verificaram que dieta com 13% de proteína bruta suplementada com metionina resultou na redução significativa do peso dos ovos em comparação com dieta com 16% de proteína bruta suplementada com metionina. De acordo com estes mesmos autores, a redução no tamanho do ovo está primeiramente associada com a redução do albúmen contido no ovo.

CUPERTINO (2006) constatou aumento na porcentagem de gema e casca com o aumento no consumo de metionina+cistina digestíveis, que variaram de 536 a 784 mg/ave/dia, para poedeiras leves.

NARVÁEZ-SOLARTE (1996) trabalharam com níveis de metionina+cistina na ração e notaram aumento linear do índice de albúmen e unidade Haugh com o aumento dos níveis de metionina na ração para poedeiras leves e semipesadas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Instalações, aves e manejo

O experimento foi conduzido no setor de Avicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp, Câmpus de Jaboticabal – SP.

Foram utilizadas 480 poedeiras comerciais da linhagem Isa Brown, no período de 28 a 44 semanas de idade. As aves foram selecionadas pelo peso corporal e pela produção de ovos onde foram distribuídas nas parcelas para equalização da produção nas repetições a fim de reduzir o efeito individual.

O manejo diário consistiu em oferecer água e ração à vontade as aves e anotar a produção diária dos ovos.

O programa de luz adotado foi o de 17 horas de luz diária. O controle do fornecimento de luz foi realizado por meio de um relógio automático temporizador (timer), que permitiu o acender e o apagar das luzes durante o período da noite e da madrugada, conferindo 17 horas de luz diária.

O período experimental teve duração de 16 semanas e foi subdividido em quatro subperíodos de coleta de ovos, sendo cada um correspondente a 28 dias. Ao final de cada subperíodo, o desempenho das aves foi avaliado pelos dados de consumo de ração (g/ave/dia), produção de ovos (%), peso dos ovos (g), massa de ovos (g), conversão alimentar (kg de ração/dúzia de ovos), além da avaliação dos parâmetros relativos à qualidade dos ovos que foram avaliados durante os três últimos dias de cada subperíodo através do peso médio do ovo (g), espessura de casca (mm), Unidade Haugh e gravidade específica dos ovos (g/cm³).

4.2. Rações experimentais

As rações foram formuladas para atenderem às exigências nutricionais de ROSTAGNO et al. (2005) sendo isocálcicas (4,19% Ca), isofosfóricas (0,37% Pd),

isoenergéticas (2.900 kcal EM/kg), isoprotéicas (17%) e isoaminoacídicas, à exceção da metionina e dos aminoácidos sulfurados, com base nos valores de aminoácidos digestíveis. A porção variável foi constituída de um inerte (caulim), e ou DL-metionina, metionina hidróxi análoga e gluconato de sódio, para atingir os níveis propostos nas rações (Tabela 1).

Os tratamentos consistiram de duas rações testemunhas, 5 níveis de metionina + cistina (nível ideal considerado por Rostagno, e dois níveis acima e dois níveis abaixo do ideal) e os níveis de gluconato de sódio utilizado foram de 0 e 500 ppm.

Os tratamentos experimentais estudados foram:

T1 – Testemunha (DL-metionina) com 0,645% de metionina + cistina de acordo com ROSTAGNO et al. (2005), sem gluconato de sódio;

T2 – Testemunha (DL-metionina) com 0,645% de metionina + cistina de acordo com ROSTAGNO et al. (2005), 500 ppm gluconato de sódio;

T3 - Metionina hidróxi análoga com 0,545% de metionina + cistina, sem gluconato de sódio;

T4 - Metionina hidróxi análoga com 0,545% de metionina + cistina, 500 ppm de gluconato de sódio;

T5 – Metionina hidróxi análoga com 0,595% de metionina + cistina, sem gluconato de sódio;

T6 – Metionina hidróxi análoga com 0,595% de metionina + cistina, 500 ppm de gluconato de sódio;

T7 - Metionina hidróxi análoga com 0,645% de metionina + cistina, sem gluconato de sódio;

T8 - Metionina hidróxi análoga com 0,645% de metionina + cistina, 500 ppm de gluconato de sódio;

T9 – Metionina hidróxi análoga com 0,695% de metionina + cistina, sem gluconato de sódio;

T10 - Metionina hidróxi análoga com 0,695% de metionina + cistina, 500 ppm de gluconato de sódio;

T11 - Metionina hidróxi análoga com 0,745% de metionina + cistina, sem gluconato de sódio;

T12 - Metionina hidróxi análoga com 0,745% de metionina + cistina, 500 ppm de gluconato de sódio;

Observação: considerou-se para a metionona hidróxi análoga utilizada 82% de atividade em relação à DL-metionina.

4.3. Parâmetros avaliados

Como dito anteriormente, ao final de cada subperíodo (aproximadamente 28 dias) foi avaliado o desempenho das aves e os parâmetros relativos à qualidade dos ovos foram avaliados durante os três últimos dias de cada subperíodo.

O ensaio metabólico com duração de quatro dias, para determinação da quantidade de nitrogênio das excretas foi realizado ao final do experimento.

4.3.1. Parâmetros de desempenho das aves

- **Consumo de ração (g/ave/dia)**

A ração fornecida a cada parcela foi pesada e acondicionada em recipientes plásticos com tampa, sendo que no final de cada subperíodo, as sobras foram pesadas e o consumo de ração calculado e expresso em gramas de ração por ave por dia.

- **Produção de ovos (%)**

A produção de ovos foi registrada diariamente e o cálculo realizado no final de cada subperíodo com base na percentagem de ovos produzidos por ave por dia.

- **Peso médio dos ovos (g)**

Para a determinação do peso médio dos ovos foram feitas pesagens da produção diária de cada parcela nos 3 últimos dias do subperíodo, de forma que o

peso médio dos ovos foi obtido pelo peso total de ovos produzidos dividido pelo número de ovos obtidos na parcela.

- **Massa de ovos (g)**

A massa de ovos, em gramas por ave por dia, foi obtida através da multiplicação do percentual de produção pelo respectivo peso médio dos ovos.

- **Índice de conversão alimentar (kg de ração/ dúzia de ovos)**

Foi calculado através da divisão do consumo alimentar (kg) pela dúzia de ovos produzidos pelas aves em cada subperíodo. A dúzia de ovos foi obtida pela divisão da produção de ovos por uma dúzia.

4.3.2. Parâmetros de qualidade dos ovos

Para a obtenção dos parâmetros referentes à qualidade interna e externa dos ovos, durante os últimos 3 dias de cada subperíodo, três ovos por parcela foram identificados para a realização das mensurações.

- **Gravidade específica (g/cm³)**

Para mensuração da gravidade específica, diariamente durante os três últimos dias do subperíodo, todos os ovos íntegros da parcela foram mergulhados em soluções salinas cuja faixa de densidade das soluções são de 1,065 a 1,100, com intervalos de 0,005 de acordo com as recomendações de MORENG e AVENS (1990). Para efeito de cálculo, considera-se que a gravidade específica é aquela em que o ovo se torna submerso.

- **Unidades Haugh**

Durante as coletas dos últimos 3 dias do subperíodo, diariamente 3 ovos

foram quebrados sobre uma superfície plana de vidro para a obtenção da altura de albúmen com um micrômetro. Para a obtenção das unidades Haugh, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$UH = 100 \cdot \log_{10} ((H + 7,5) - ((1,7 \cdot (W^{0,37}))))$$

onde: UH = Unidades Haugh; H = Altura do albúmen em milímetros; W = Peso do ovo em gramas.

- **Porcentagem e espessura de casca (mm)**

Dos 3 ovos que foram quebrados diariamente por parcela, as cascas foram mergulhadas em água e o albúmen que ficou aderido à membrana externa foi cuidadosamente retirado com o polegar. Com as devidas identificações, as cascas foram secas em temperatura ambiente por 72 horas e posteriormente pesadas. Após a pesagem das mesmas, as cascas tiveram sua espessura determinada através de medidas em três pontos distintos da região mediana, sendo utilizado micrômetro digital.

4.3.3. Ensaio de metabolismo

Para a determinação do ensaio de metabolismo, foram escolhidas duas repetições de cada tratamento estudado, totalizando 24 parcelas. Cada parcela foi composta de 4 aves, totalizando 96 aves para o ensaio metabólico. Tal procedimento foi realizado nas instalações do setor de avicultura.

Foi utilizado o método de coleta total de excretas. O ensaio teve duração de 4 dias para coleta das excretas. Após o período de adaptação foram adicionados 2,0% de óxido férrico, em todas as rações no primeiro e no último dia, como marcador do início e do término da coleta das excretas.

A água e a ração foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental.

Foram feitas duas coletas diárias a fim de minimizar as perdas de água e nitrogênio das excretas.

As excretas coletadas foram armazenadas em congelador a -10°C até o final do período de coleta, quando então, foram descongeladas, devidamente

homogeneizadas por repetição, pesadas e colocadas em estufa ventiladas por 72 horas a 55°C, para ser efetuada a pré-secagem. Posteriormente foram expostas ao ar, para que haja equilíbrio com a temperatura e umidade ambiente. Em seguida, foram pesadas, moídas e acondicionadas para as análises posteriores.

Foram anotadas as quantidades de rações consumidas e de excretas produzidas. As análises laboratoriais de matéria seca e nitrogênio, das excretas foram feitas pelos métodos descritos por SILVA (1990).

Índices avaliados:

Determinação do nitrogênio total das excretas: foi determinado no aparelho Micro-Kjeldahl.

- **Determinação da proteína bruta das excretas:** os teores de proteína bruta foram obtidos pela multiplicação da porcentagem do nitrogênio total, pelo fator 6,25.

4.3.4. Morfometria do duodeno

As características avaliadas foram: altura das vilosidades do duodeno (Vilo), a profundidade das criptas (Cripta) e a relação altura de vilo/profundidade de cripta (Vilo/Cripta).

Para avaliação destas características foram abatidas, aleatoriamente, ao final do período experimental, 6 aves por tratamento, perfazendo um total de 72 aves. Após o abate, foram colhidas amostras com aproximadamente 2,0 cm de comprimento da porção proximal do duodeno de cada ave. Estas amostras foram abertas em sua borda mesentérica, lavadas, estendidas pela túnica serosa e fixadas em solução de Bouin. Do abate ao início da fixação o tempo não ultrapassou cinco minutos, evidenciando uma preocupação em realizar uma coleta histológica de qualidade.

Depois de 24 horas na solução fixadora de Bouin, as amostras de duodeno foram processadas no Laboratório de Histologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV/Unesp. Tais amostras foram lavadas em álcool etílico a 70% e a seguir desidratadas em séries crescentes de álcoois. As amostras foram recortadas, diafanizadas em benzol e processadas, com o intuito de incluir o material em paraplast. A seguir, foram realizados cinco cortes semi-seriados

histológicos de 6 µm de espessura e corados segundo a técnica de Hematoxilina e Eosina – HE (BEHME et al. 2003) para cada animal. Posteriormente o material foi acondicionado em caixas histológicas numeradas de acordo com os tratamentos.

As lâminas devidamente coradas foram analisadas ao microscópio de luz. As secções dos duodenos nas lâminas histológicas foram divididas em quadrantes para mensuração da altura de vilo e profundidade de cripta. Porém foram identificados os vilos por quadrante que estivessem em condições de serem medidos e neles foram realizadas as medidas. É importante ressaltar que em alguns dos casos houve quadrantes que não apresentaram vilos em condições de serem medidos, então foram coletadas informações apenas dos quadrantes que foram passíveis de medida. Para medir a altura de vilo e profundidade de cripta, foi utilizado um microscópio de luz, com objetiva de aumento de 5 vezes. As imagens pertinentes à avaliação morfométrica foram capturadas com o auxílio da microcâmera Olympus DP 11 acoplada ao microscópio e armazenadas em um cartão de memória, pertencentes ao Laboratório de Anatomia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV/Unesp. As imagens do intestino das aves foram descarregadas em um microcomputador e analisadas à morfometria com o auxílio do software Image Pro Plus®, Media Cybernetics, Brasil, versão 4.1.

4.3.5. Análise estatística

Todas as variáveis foram submetidas à análise de variância e posteriormente (quando se encontrou efeito significativo <0.001) realizadas análises de regressão pelo modelo polinomial linear e quadrático (SAS, 2002). Optou-se pelo esquema fatorial 5 x 2, para analisar o efeito dos níveis de metionina+cistina (0,545%, 0,595%, 0,645%, 0,695% e 0,745%) com os níveis de gluconato de sódio (0 e 500 ppm) e pelo esquema fatorial 2 x 2 para analisar o efeito das duas fontes de metionina (DI-metionina e MHA) com os níveis de gluconato de sódio (0 e 500 ppm).

Tabela 1. Composição percentual e valor nutricional das dietas experimentais:

Ingredientes (%)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
Milho	57,79	57,79	57,79	57,79	57,79	57,79	57,79	57,79	57,79	57,79	57,79	57,79
Farelo de soja	26,40	26,40	26,40	26,40	26,40	26,40	26,40	26,40	26,40	26,40	26,40	26,40
Calcário	9,80	9,80	9,80	9,80	9,80	9,80	9,80	9,80	9,80	9,80	9,80	9,80
Óleo de soja	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60	3,60
Fosfato Bicálcico	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43	1,43
Sal Comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Supl. Vitam. e Mineral*	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Caulim	0,18	0,13	0,28	0,23	0,22	0,17	0,16	0,11	0,11	0,06	0,05	0,00
DI-Metionina	0,10	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MHA	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,06	0,12	0,12	0,17	0,17	0,23	0,23
Gluconato de sódio	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05	0,00	0,05
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valor nutricional calculado												
Energia Metab.	2,9000	2,9000	2,9000	2,9000	2,9000	2,9000	2,9000	2,9000	2,9000	2,9000	2,9000	2,9000
Proteína Bruta	17,000	17,000	17,000	17,000	17,000	17,000	17,000	17,000	17,000	17,000	17,000	17,000
Fósforo Disponível	0,3700	0,3700	0,3700	0,3700	0,3700	0,3700	0,3700	0,3700	0,3700	0,3700	0,3700	0,3700
Fósforo Total	0,5800	0,5800	0,5800	0,5800	0,5800	0,5800	0,5800	0,5800	0,5800	0,5800	0,5800	0,5800
Cálcio	4,2000	4,2000	4,2000	4,2000	4,2000	4,2000	4,2000	4,2000	4,2000	4,2000	4,2000	4,2000
Met+Cistina Dig.	0,6450	0,6450	0,5450	0,5450	0,5950	0,5950	0,6450	0,6450	0,6950	0,6950	0,7450	0,7450
Metionina Dig.	0,3570	0,3570	0,2998	0,2998	0,3273	0,3273	0,3570	0,3570	0,3823	0,3823	0,4098	0,4098
Lisina Dig.	0,8650	0,8650	0,8650	0,8650	0,8650	0,8650	0,8650	0,8650	0,8650	0,8650	0,8650	0,8650
Treonina Dig.	0,5732	0,5732	0,5732	0,5732	0,5732	0,5732	0,5732	0,5732	0,5732	0,5732	0,5732	0,5732
Sódio	0,2300	0,2300	0,2300	0,2300	0,2300	0,2300	0,2300	0,2300	0,2300	0,2300	0,2300	0,2300

*Suplemento vitamínico e mineral – Composição/kg: vit. A 8.000.000 U.I., vit. D₃ 2.100.000 U.I., vit. E 7.000 mg, vit. K₃ 2.000 mg, vit. B₁ 1.000 mg, vit. B₂ 3.000 mg, vit. B₆ 700 mg, vit. B₁₂ 6.000 mcg, ác. Fólico 100 mg, biotina 10 mg, Niacina 20.000 mg, pantotenato de cálcio 10.000 mg, cobre 6.000 mg, cobalto 100mg, iodo 1.000 mg, ferro 50.000 mg, manganês 55.000 mg, zinco 50.000 mg, selênio 200 mg, antioxidante 2.000 mg.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias de desempenho e qualidade dos ovos em função dos níveis de metionina + cistina (0,545%, 0,595%, 0,645%, 0,695% e 0,745%) e dos níveis de gluconato de sódio (0 e 500 ppm) estão descritos na tabela 2, bem como o resumo das análises estatísticas para as diferentes características. Observou-se efeito significativo para as variáveis: consumo de ração, produção, peso médio e massa de ovos, conversão alimentar e unidade Haugh em função dos níveis de metionina+cistina estudados. O gluconato de sódio não expressou efeito significativo estatisticamente sobre nenhuma variável, porém pode-se observar alterações numéricas de algumas variáveis estudadas, evidenciando respostas satisfatórias.

Os resultados das variáveis em função das duas fontes de metionina (DI-metionina e MHA) estudadas com os dois níveis de gluconato de sódio (0 e 500 ppm) apresentam-se na tabela 3, além do resumo das análises estatísticas. Não foram observadas diferenças significativas entre as fontes de metionina associadas aos dois níveis de gluconato de sódio. Não ocorreu interação entre os modelos fatoriais estudados (níveis de metionina+cistina digestíveis associado ao uso do gluconato de sódio, bem como as duas fontes de metionina com o uso dos dois níveis de gluconato de sódio) para nenhuma variável analisada.

As equações de regressão obtidas para as diferentes variáveis, os coeficientes de determinação (R_2) e os níveis ótimos de metionina+cistina digestíveis estimados (NOEM+C) são apresentados na Tabela 4. As estimativas dos níveis ótimos de metionina+cistina foram obtidos por meio da primeira derivada da equação quadrática.

Tabela 2. Consumo de ração (CR), Porcentagem de Postura (P %), massa de ovos (MO), conversão alimentar (C.A.), Porcentagem de casca (% CAS), espessura de casca (ESP CAS), gravidade específica (GRAV), peso médio dos ovos (PM) e Unidade Haugh (UH) de poedeiras semipesadas recebendo diferentes níveis de metionina+cistina digestíveis e 0 e 500 ppm de gluconato de sódio na ração, no período de 28 a 44 semanas de idade.

Variável	Glu ppm	Nível de metionina + cistina dig. (%)				Média	CV (%)	Probabilidade	
		0,545	0,595	0,645	0,745			M+C	GLU M+C x GLU
CR (g/ave/dia)	0	76,87	86,31	89,10	99,17	97,99	89,89		
	500	76,24	88,31	91,00	98,64	97,66	90,37	6.09	<0,001 NS
	Média	76,55	87,31	90,05	98,91	97,82			
P %	0	59,12	74,56	76,72	88,18	87,84	77,28		
	500	60,83	79,33	80,36	89,89	89,23	79,93	10.60	<0,001 NS
	Média	59,97	76,95	78,54	89,04	88,53			
MO	0	32,89	41,66	43,46	51,03	52,02	44,21		
	500	32,40	44,29	46,19	51,87	52,09	45,37	10.82	<0,001 NS
	Média	32,65	42,97	44,83	51,45	52,05			
C.A. (kg/dúzia)	0	1,58	1,40	1,41	1,35	1,35	1,42		
	500	1,53	1,34	1,37	1,32	1,32	1,38	9.65	<0,001 NS
	Média	1,56	1,37	1,39	1,34	1,33			
% CAS	0	10,36	10,14	10,15	10,25	10,07	10,19		
	500	10,36	9,47	10,29	10,02	10,11	10,05	10.12	NS NS
	Média	10,36	9,8	10,22	10,14	10,09			
ESP CAS (mm)	0	0,421	0,423	0,17	0,413	0,425	0,420		
	500	0,416	0,409	0,426	0,414	0,418	0,417	4.97	NS NS
	Média	0,418	0,416	0,421	0,413	0,422			
GRAV (g/cm ³)	0	1,0950	1,0955	1,0955	1,0959	1,0950	1,0954		
	500	1,0957	1,0961	1,0965	1,0960	1,0951	1,0959	0.23	NS NS
	Média	1,0954	1,0958	1,0960	1,0959	1,0950			
PM (g)	0	53,70	55,91	56,58	57,85	59,32	56,67		
	500	53,31	55,89	57,57	57,69	58,42	56,58	4.67	<0,001 NS
	Média	53,50	55,90	57,08	57,77	58,87			
UH	0	99,35	97,17	96,89	93,57	94,59	96,31		
	500	99,37	97,05	96,27	94,38	95,13	96,44	4.29	<0,001 NS
	Média	99,36	97,11	96,58	93,98	94,86			

CV= Coeficiente de Variação; NS= Não significativo (P>0,05); GLU= Gluconato de sódio; M+C= metionina + cistina digestível.

Tabela 3. Consumo de ração (CR), Porcentagem de Postura (P %), massa de ovos (MO), conversão alimentar (C.A.), Porcentagem de casca (% CAS), espessura de casca (ESP CAS), gravidade específica (GRAV), peso médio dos ovos (PM) e Unidade Haugh (UH) de poedeiras semipesadas recebendo duas fontes de metionina (DL-Met e MHA) e 0 e 500 ppm de gluconato de sódio na ração, no período de 28 a 44 semanas de idade.

Variável	Glu ppm	Fontes de Metionina		Média	CV (%)	Probabilidade	
		DL-Met	MHA			Fontes	Glu Fontes x Glu
CR (g/ave/dia)	0	89,05	90,62	89,84			
	500	89,32	89,64	89,48	6.82	NS	NS
	Média	89,19	90,13				
P %	0	76,42	82,70	79,56			
	500	79,14	74,51	76,83	11.08	NS	NS
	Média	77,78	78,61				
MO	0	43,55	46,71	45,13			
	500	44,23	42,87	43,55	17.01	NS	NS
	Média	43,89	44,79				
C.A. (kg/dúzia)	0	1,42	1,32	1,37			
	500	1,36	1,47	1,42	12.44	NS	NS
	Média	1,39	1,40				
% CAS	0	9,94	10,18	10,06			
	500	10,13	10,07	10,10	12.69	NS	NS
	Média	10,04	10,13				
ESP CAS (mm)	0	0,406	0,414	0,410			
	500	0,419	0,423	0,425	12.34	NS	NS
	Média	0,413	0,419				
GRAV (g/cm ³)	0	1,0938	1,0963	1,0951			
	500	1,0963	1,0949	1,0956	1.17	NS	NS
	Média	1,0951	1,0956				
PM (g)	0	56,25	56,24	56,25			
	500	55,86	57,10	56,48	6.21	NS	NS
	Média	56,06	56,67				
UH	0	97,75	96,74	97,25			
	500	97,74	96,07	96,91	12.69	NS	NS
	Média	97,75	96,41				

CV= Coeficiente de Variação; NS= Não significativo (P>0,05); GLU= Gluconato de sódio;

5.1 Consumo de ração

Foi observado efeito ($P < 0,001$) significativo dos níveis de metionina+cistina digestíveis sobre o consumo de ração. Verificou-se que o menor consumo de ração foi observado nas aves que receberam a ração com os tratamentos compostos pelos menores níveis de aminoácidos sulfurados (0,545 e 0,595%). Tais níveis são abaixo do recomendado por ROSTAGNO et al. (2005). AUSTIC (1986) inferiu que a deficiência drástica de metionina na dieta provoca sua diminuição no plasma sanguíneo e nesta situação um sinal é enviado ao sistema nervoso central, que ativa os mecanismos responsáveis pela redução no consumo de alimentos. Efeito semelhante de menor consumo foi encontrado por NARVAES SOLARTE (1996) para poedeiras leves e semipesadas nas dietas deficientes em metionina+cistina.

A equação de resposta para consumo alimentar aos níveis de metionina+cistina da dieta estimada por meio de regressão quadrática é apresentada na tabela 4, bem como o nível ótimo de aminoácidos sulfurados para esta variável e o coeficiente de determinação (R^2). Na figura 1 encontra-se a representação gráfica da equação quadrática. O nível ótimo encontrado pela derivada desta equação demonstra que apesar do modelo quadrático ter se ajustado aos dados, a estimativa gerada por ele encontra-se fora do intervalo testado (0,753%) o que não garante uma boa estimativa ou um ajuste adequado. De acordo com LAMBERSON & FIRMAM (2002) o modelo quadrático pode proporcionar super-estimativas das exigências.

Diversos trabalhos divergem quanto aos resultados estatísticos para consumo de ração ao trabalharem com diferentes níveis de metionina+cistina na ração. CUPERTINO et al. (2006) observaram aumento linear no consumo de ração de poedeiras semipesadas de 54 a 70 semanas ao variarem os níveis de 0,492 a 0,700% de metionina+cistina digestíveis. Por outro lado, SÁ et al. (2007) não verificaram efeito da variação dos níveis de aminoácidos sulfurosos de 0,517 a 0,734% sobre o consumo de ração de poedeiras leves e semipesadas de 34 a 50 semanas de idade. A inconsistência de resultados entre os trabalhos pode estar relacionada, entre outros fatores, à composição das rações experimentais e quanto ao balanço aminoacídico.

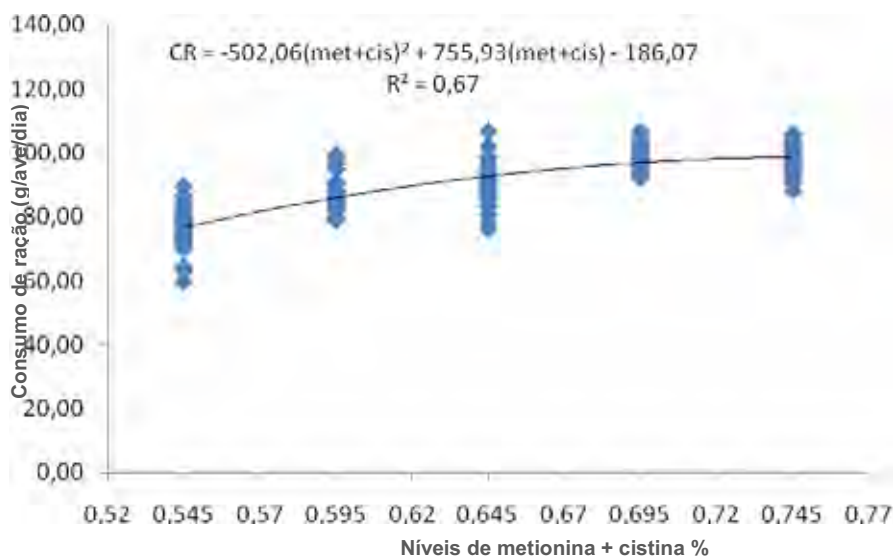


Figura 1. Variação do consumo de ração em função dos níveis de metionina+cistina digestíveis da dieta.

5.2 Produção, peso e massa de ovo.

Foi verificado efeito ($<000,1$) significativo dos níveis de metionina+cistina digestíveis sobre a produção, o peso e a massa de ovo. Quanto à produção foi verificado efeito quadrático desta variável aos níveis de aminoácidos sulfurados da dieta. A equação de regressão, o coeficiente de determinação (R^2) e o nível ótimo de aminoácidos sulfurados para esta variável (0,738%) estão apresentados na tabela 4 e como representação gráfica na figura 2.

A presença do gluconato de sódio revelou resultados numericamente superiores para produção e massa de ovos, porém as médias não se diferiram estatisticamente.

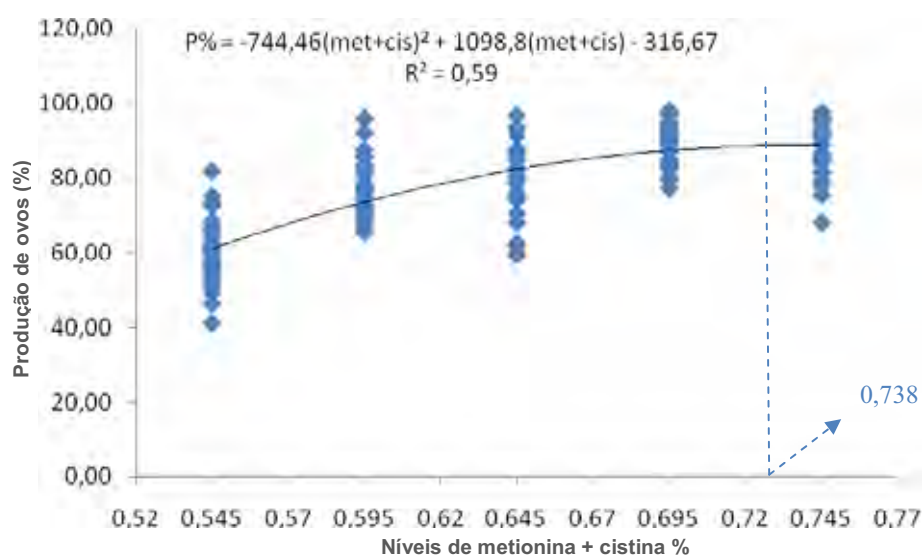


Figura 2. Variação da produção de ovos (P%) em função dos níveis de metionina+cistina da dieta.

Diversos pesquisadores (HARMS e HUSSEL, 2003; NOVAK e SCHEIDELER, 2004; SÁ, 2005 e GERALDO, 2006) também identificaram resposta na produção de ovos de poedeiras quando suplementaram dietas deficientes em metionina+cistina com metionina. NARVAEZ SOLARTE (1996) verificou que níveis superiores a 0,684% de metionina+cistina totais na dieta podem causar efeitos negativos na produção de ovos porque também promovem o desequilíbrio aminoacídico, tendo como consequência, a redução da síntese protéica com o aumento no catabolismo do aminoácido limitante, o que coincide com os resultados encontrados neste estudo. Entretanto, este efeito negativo provocado por altos níveis dos aminoácidos sulfurados na dieta não foi detectado por CUPERTINO (2006).

Em relação ao peso médio dos ovos, observa-se que as aves que receberam ração com os níveis de aminoácidos sulfurados abaixo do recomendado, produziram ovos com peso abaixo da média dos outros tratamentos. Os efeitos benéficos da suplementação de metionina sobre esta variável são evidentes na literatura. No presente trabalho, observa-se efeito linear do peso médio dos ovos e efeito quadrático de massa dos ovos aos níveis de aminoácidos sulfurados da dieta. Por meio da primeira derivada da equação

quadrática foi estimado o nível de metionina+cistina digestível de 0,758%, como sendo o adequado para maximizar a massa de ovos. Assim como para a variável consumo de ração, o modelo quadrático não garante uma boa estimativa já que o nível considerado ótimo encontra-se fora do intervalo testado.

Nas figuras 3 e 4 encontram-se a representação gráfica do efeito linear e quadrático das variáveis peso médio e massa de ovos, respectivamente. As equações estimadas por regressão, o nível ótimo para massa de ovos e os coeficientes de determinação (R^2) estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4. Equações ajustadas para o consumo de ração (CR), produção de ovos (P%), massa de ovos (MO), conversão alimentar (CA), peso médio dos ovos (PM) e unidade Haugh (UH) em função dos níveis de metionina + cistina digestível (M+C), coeficientes de determinação (R_2), e níveis ótimos estimados pelos modelos de metionina+cistina (NOEM+C).

Modelo	Variável/Equação	NOEM+C (%)	R_2
Consumo de Ração (g/ave/dia)			
Quadrático	CR = $-502,06(\text{met+cis})^2 + 755,93(\text{met+cis}) - 186,07$	0,753	0,67
Produção de ovos (%)			
Quadrático	P% = $-744,46(\text{met+cis})^2 + 1098,8(\text{met+cis}) - 316,67$	0,738	0,59
Massa de ovos (g)			
Quadrático	MO = $-419,42(\text{met+cis})^2 + 635,64(\text{met+cis}) - 188,61$	0,758	0,66
Conversão Alimentar			
Quadrático	C.A. = $8,249(\text{met+cis})^2 - 11,603(\text{met+cis}) + 5,4084$	0,703	0,24
Peso Médio (g)			
Linear	PM = $39,531(\text{met+cis}) + 30,411$	---	0,15
Unidade Haugh			
Linear	UH = $-30,561(\text{met+cis}) + 115,46$	---	0,06

PAVAN et al. (2005) bem como outros pesquisadores (SHAFER et al. 1998, HARMS e RUSSEL 2003, SOHAIL 2002), observaram efeito significativo dos níveis de metionina+cistina sobre o peso dos ovos.

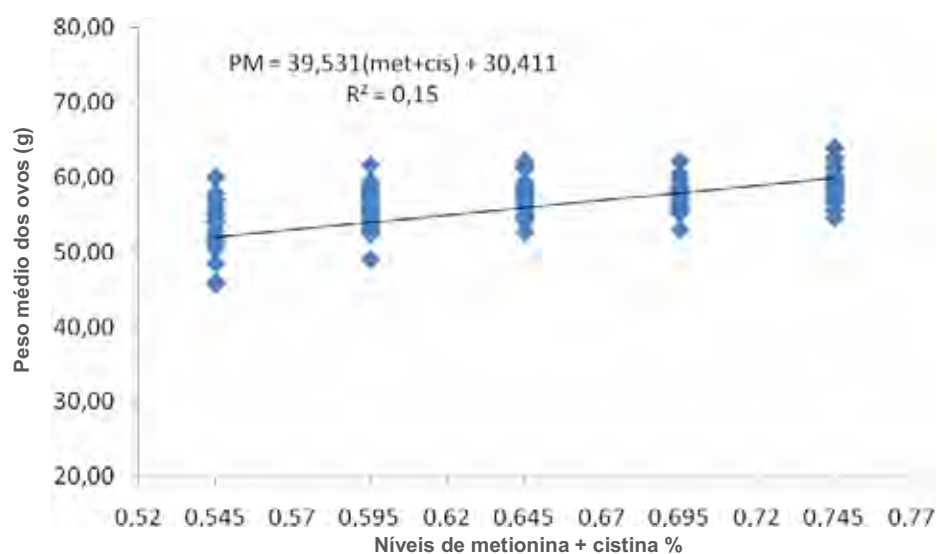


Figura 3. Variação do peso médio dos ovos em função dos níveis de metionina+cistina da dieta.

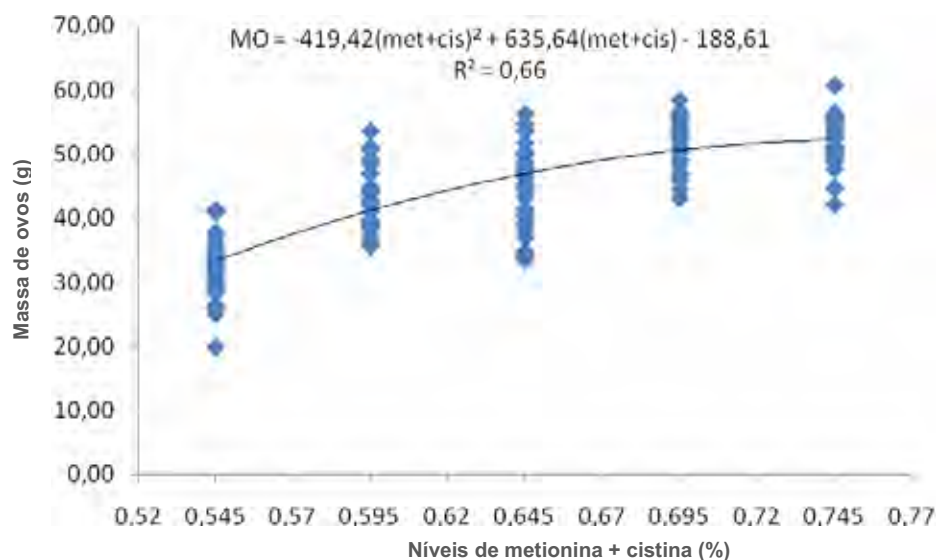


Figura 4. Variação da massa de ovos em função dos níveis de metionina+cistina da dieta.

A massa de ovos é influenciada pelos resultados de peso médio e produção de ovos já descritos, sofrendo influência direta destas variáveis ($Massa\ de\ ovo = (\% \text{ Postura} \times \text{Peso Médio})/100$).

5.3 Conversão Alimentar

Os resultados obtidos para conversão alimentar foram expressos em quilograma de ração consumida por dúzia de ovos produzidos (C.A.) ao invés de quilograma de ração consumida por quilograma de ovos produzidos, pois o peso médio dos ovos durante o experimento mostrou-se muito heterogêneo dentro do mesmo tratamento, superestimando ou subestimando os valores de conversão alimentar.

Houve efeito significativo dos níveis de metionina+cistina sobre a conversão alimentar (tabela 2). Observa-se que o pior resultado foi aquele obtido pelo menor nível de aminoácidos sulfurados (0,545%). Na figura 5 encontra-se a representação gráfica da equação de regressão do modelo quadrático. O coeficiente de determinação (R^2), a equação de regressão do modelo quadrático, e o nível ótimo estimado (0,703%) de aminoácidos sulfurados como sendo adequado para minimizar essa variável, encontram-se na tabela 4.

Diversos autores (RODRIGUES et al. 1996, NOVAK e SCHEIDLER 2004, SÁ 2005 e GERALDO 2006) observaram uma melhora considerável na eficiência de utilização da ração para a variável produção de ovos com o aumento dos níveis de metionina+cistina digestíveis da dieta. Estes resultados são atribuídos ao melhor equilíbrio aminoacídico.

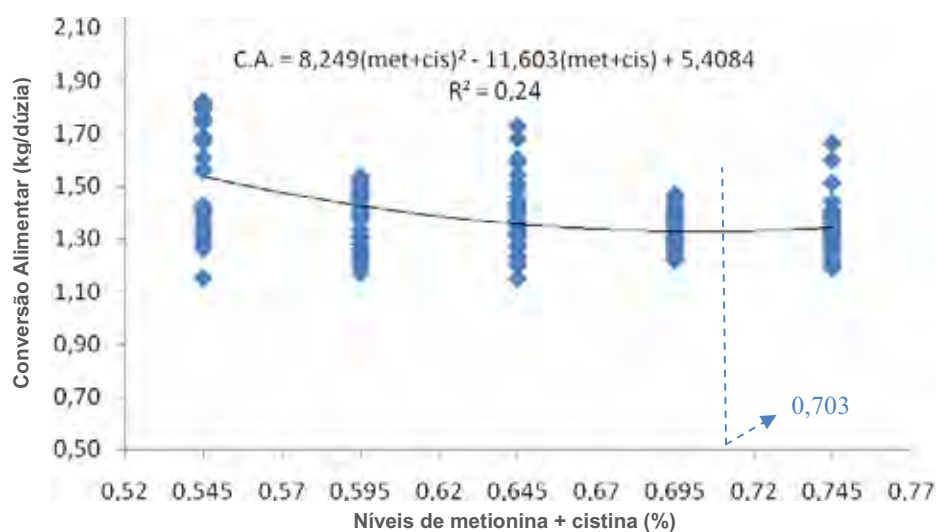


Figura 5. Variação da conversão alimentar em função dos níveis de metionina+cistina da dieta.

O uso do gluconato de sódio não revelou efeito estatisticamente significativo sobre esta variável, muito embora os resultados apresentados mostrem uma tendência de melhora na conversão alimentar quando da adição do mesmo.

5.4 Qualidade interna e externa dos ovos

Não foi observado efeito significativo ($P < 0,0001$) dos níveis de metionina+cistina sobre as variáveis % casca, espessura de casca e gravidade específica dos ovos, somente para a variável unidade Haugh (tabela 2).

É possível observar uma melhora nas unidades Haugh à medida que se reduz os níveis de metionina+cistina da dieta. Este resultado é mais evidente na tabela 4 e na figura 6, onde a equação linear é representada por meio do gráfico. Estes resultados concordam com NARVAEZ SOLARTE (1996) e discordam de NOVAK e SCHEIDELER (2004) que não observaram efeito significativo de nenhuma variável sobre a qualidade dos ovos.

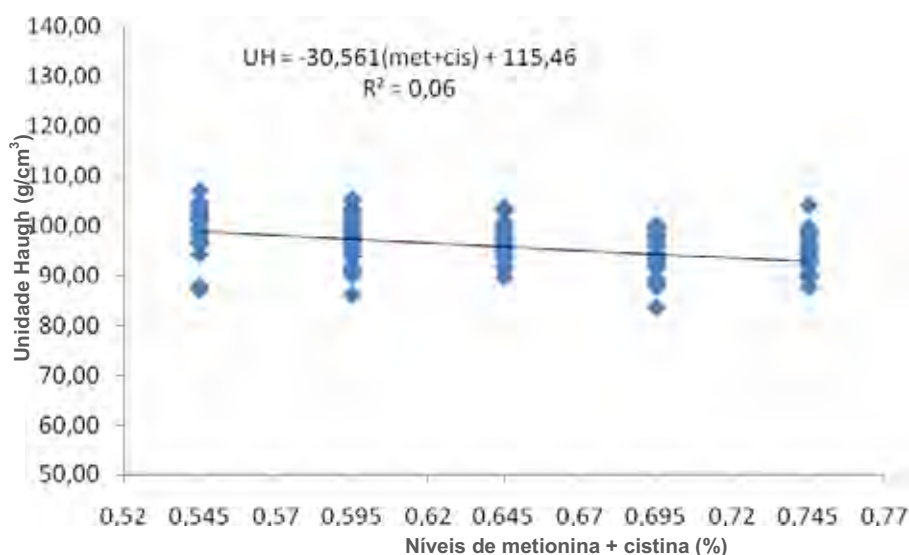


Figura 6. Unidade Haugh em função dos níveis de metionina+cistina da dieta.

É oportuno considerar que em função dos diversos fatores que afetam a qualidade dos ovos, como por exemplo, o seu tempo de armazenamento, a idade das aves, a temperatura no ambiente de produção e na sala de armazenamento e a variação nos aparelhos usados para determinar as diversas medições, podem ocorrer variações nas respostas obtidas nos diversos ensaios experimentais.

5.5 Morfometria do duodeno e ensaio de metabolismo

Os resultados da morfometria do duodeno e as variáveis do ensaio de metabolismo para as duas fontes de metionina e para os diferentes níveis de metionina + cistina associados ao uso do gluconato de sódio estão apresentados nas tabelas 5, 6, 7 e 8.

Não houve efeito significativo para as variáveis: altura de vilo (Vilo), profundidade de cripta (Cripta) e relação altura vilo/profundidade cripta (Vilo/Cripta). Porém, o coeficiente de variação para estas variáveis foram muito altos, apesar disto, observa-se uma melhora na morfometria intestinal das aves que receberam o gluconato de sódio, demonstrando que este aditivo pode ter um efeito prebiótico, pois revelou um efeito numericamente superior para altura de vilosidade e profundidade de cripta apesar de não ter tido efeito estatisticamente significativo.

Tabela 5. Altura de vilos (AltVilos), profundidade de cripta (ProfCripta), relação altura de vilo e profundidade de cripta (AV/PC) do duodeno de poedeiras semipesadas recebendo duas fontes de metionina (DL-Met e MHA) e 0 e 500 ppm de gluconato de sódio na ração, no período de 28 a 44 semanas de idade.

Variável	Glu ppm	Fontes de Metionina		Média	CV (%)	Probabilidade		
		DL-Met	MHA			Fontes	Glu	Fontes x Glu
AltVilos (μm)	0	1444	1285	1365				
	500	1453	1317	1385	32,1	NS	NS	NS
	Média	1449	1301					
ProfCripta (μm)	0	207	189	198				
	500	225	215	220	31,2	NS	NS	NS
	Média	216	202					
AV/PC	0	7,62	7,59	7,60				
	500	7,05	6,93	6,99	35,3	NS	NS	NS
	Média	7,34	7,26					

CV= Coeficiente de Variação; NS= Não significativo ($P>0,05$); GLU= Gluconato de sódio;

A altura das vilosidades intestinais e da profundidade da cripta esta diretamente relacionada com a capacidade absorptiva dos animais e, por sua vez, o aumento na altura de vilosidade pode ocorrer devido à maior proliferação das células na cripta.

Quanto ao ensaio de metabolismo, não foi verificada diferença estatisticamente significativa para a percentagem de proteína e nitrogênio das excretas.

A quantidade de nitrogênio excretada pode representar aquele oriundo do metabolismo da proteína e do turnover das células. Embora o nitrogênio seja de grande valor como fertilizante, o excesso deste pode causar dano e é especialmente prejudicial ao meio ambiente.

Tabela 6. Altura de vilos (AltVilos), profundidade de cripta (ProfCripta), relação altura de vilos e profundidade de cripta (AV/PC) do duodeno de poedeiras semipesadas recebendo diferentes níveis de metionina+cistina digestíveis e 0 e 500 ppm de gluconato de sódio na ração, no período de 28 a 44 semanas de idade.

Variável	Glu ppm	Nível de metionina + cistina dig. (%)					Média	CV (%)	Probabilidade		
		0,545	0,595	0,645	0,695	0,745			M+C	GLU	M+C x GLU
AltVilos (μ m)	0	1176	1384	1267	1230	1232	1258				
	500	1375	1573	1363	1521	1287	1424	33,1	NS	NS	NS
	Média	1276	1479	1315	1376	1260					
ProfCripta (μ m)	0	179	222	172	188	183	189				
	500	185	223	214	201	168	198	30,3	NS	NS	NS
	Média	182	222	193	194	176					
AV/PC	0	7,07	6,76	8,10	7,33	8,00	7,45				
	500	7,46	7,11	7,16	8,47	8,55	7,75	38,7	NS	NS	NS
	Média	7,26	6,94	7,63	7,90	8,28					

CV= Coeficiente de Variação; NS= Não significativo (P>0,05); GLU= Gluconato de sódio; M+C= metionina + cistina digestível.

Tabela 7. Quantidade de nitrogênio (N) e proteína bruta (P) nas excretas de poedeiras semipesadas recebendo duas fontes de metionina (DL-Met e MHA) e 0 e 500 ppm de gluconato de sódio na ração, no período de 28 a 44 semanas de idade.

Variável	Glu ppm	Fontes de Metionina		Média	CV (%)	Probabilidade		
		DL-Met	MHA			Fontes	Glu	Fontes x Glu
N	0	6,17	6,12	6,14	8,92	NS	NS	NS
	500	5,58	6,22	5,90				
	Média	5,88	6,17					
P	0	38,55	38,28	38,42	8,92	NS	NS	NS
	500	34,89	38,91	36,90				
	Média	36,72	38,60					

CV= Coeficiente de Variação; NS= Não significativo ($P>0,05$); GLU= Gluconato de sódio;

A maior eficiência da utilização da proteína e de aminoácidos dietéticos pelas aves pode proporcionar o suprimento adequado às suas exigências nutricionais, podendo reduzir os efeitos da poluição ambiental pela redução da excreção de nitrogênio, além da possibilidade de redução nos custos de produção.

De acordo com alguns autores (BLAIR et al. 1999 e KIM et al. 2006), a suplementação com os hidróxi análogos de metionina seria uma alternativa para reduzir a excreção de nitrogênio devido a sua eficiência de utilização, diminuindo assim, a poluição ambiental. Porém, no presente estudo, estes resultados não foram evidenciados, não havendo diferenças entre as fontes de metionina estudadas.

A menor excreção de nitrogênio é mais pronunciada quando há diferenças nos níveis de proteína bruta da dieta, comprovado pelos achados de JACOB et al. (2000) que ao avaliarem dietas com diferentes teores protéicos (17 e 13,5% de PB) observaram que a redução do nível de PB da dieta causou diminuição da quantidade de nitrogênio eliminado nas excretas de galinhas poedeiras, sem efeitos adversos na produção de ovos e na conversão alimentar. Estes resultados concordam com ISHIBASHI & YONEMOCHI (2003), que ao estudarem as exigências de aminoácidos sobre a produção de ovos, observaram queda evidente na quantidade de nitrogênio eliminada nas excretas de galinhas poedeiras quando empregaram menores níveis de proteína bruta e ressaltaram que, para o alcance da produção animal sustentável, as reduções das excretas e da quantidade de nitrogênio eliminadas no meio ambiente devem ser ainda melhor estudadas.

Tabela 8. . Quantidade de nitrogênio (N) e proteína bruta (P) nas excretas de poedeiras semipesadas recebendo diferentes níveis de metionina+cistina digestíveis e 0 e 500 ppm de gluconato de sódio na ração, no período de 28 a 44 semanas de idade.

Variável	Glu ppm	Nível de metionina + cistina dig. (%)				Média	CV (%)	Probabilidade	
		0,545	0,595	0,645	0,695			0,745	M+C
N	0	6,47	6,70	6,57	6,56	6,14	6,48		
	500	6,32	6,71	6,78	6,31	6,83	6,59	8,96	NS NS
	Média	6,40	6,70	6,60	6,44	6,48			NS NS
P	0	40,44	41,88	41,06	41,00	38,38	40,55		
	500	39,50	41,94	42,38	39,44	42,69	41,19	8,96	NS NS
	Média	39,97	41,91	41,72	40,22	40,54			NS NS

CV= Coeficiente de Variação; NS= Não significativo (P>0,05); GLU= Gluconato de sódio; M+C= metionina + cistina digestível.

6. CONCLUSÃO

A exigência de metionina+cistina para o melhor desempenho das poedeiras foi de 0,753% para consumo de ração, 0,738% para a produção de ovos, 0,758% para massa de ovos e 0,703% para conversão alimentar. Apesar de encontradas diversas respostas quanto aos níveis de aminoácidos sulfurados, recomenda-se o nível 0,738% de metionina + cistina para atingir a melhor produção de ovos. Conclui-se que o uso do gluconato de sódio na inclusão de 500 ppm não expressou resultado significativo estatisticamente nas variáveis analisadas, porém houve uma tendência de melhora nas variáveis produção e massa de ovos, conversão alimentar e integridade intestinal, evidenciando a necessidade de estudos com maiores inclusões deste aditivo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre aditivos utilizados segundo as boas práticas de fabricação e suas funções. Resolução RDC nº 234, de 19 de agosto de 2002. D.O.U. - **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 21 de agosto de 2002.

ASANO T., YUASA K., KUNUGITA K., TERAJI T., MITSUOKA T., (1994). **Ecol. Health Dis.**, 7: 247–256.

AUSTIC, R.E. Nutrient requirements of poultry and nutritional research. **Edition Fischer and Boorman**. Butterworths. London, 1986.

BARANYIOVA, E.; HOLMAN, J. Morphological changes in the intestinal wall in fed and fasted chickens in the first week after hatching. **Acta Veterinaria Brunensis**, v. 45, p. 151-158, 1976.

BEHMER, O.A.; TOLOSA, E.M.C.; FREITAS-NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. Barueri – SP: Manole, 2003, 331p.

BETERCHINI, A. G.; TEIXEIRA A. S.; LIRA, V.M.C. Níveis de lisina para poedeiras comerciais leves na fase de pico de postura. In: Conferência APINCO de ciência e tecnologia avícola, Curitiba. Anais... Curitiba, PR: **APINCO**, p.75, 1995.

BIAGI, G.; PIVA, A.; MOSCHINI, M. et al. Effect of gluconic acid on piglet growth performance, intestinal microflora, and intestinal wall morphology. **Journal Animal Science**, v.84, p.370-378, 2006.

BLAIR, R.; JACOB, J. P.; IBRAHIM, S.; WANG, P. A Quantitative Assessment of Reduced Protein Diets and Supplements to Improve Nitrogen Utilization. **Journal Applied Poultry Research**, v. 8, p. 25-47, 1999.

BLOCK, R. J.; JACKSON, R. W. The metabolism of cystine and methionine. **Journal of Biology and Chemistry**, v.97, p.CVI-CVII, (abstr.), 1932.

BOEBEL, K. P.; BAKER, D. H. Efficacy of the calcium salt and free acid forms of methionine hydroxy analog for chicks. **Poultry Science**, v.61, p.1167-1175, 1982.

CHAMBERS, C.; GREY, R. D.; Development of the structural components of the brush border in absorptive cells of the chick intestine. **Cell Tissue Research**, v. 7, p. 387-405, 1979.

COMBS, C. F. Further studies of protein and amino acid needs of broilers and laying hens. **Proc. Maryland Nutr. Conf.:** 45-71, 1964.

CUPERTINO, E. S. Exigência de aminoácidos digestíveis (lisina, aminoácidos sulfurosos e treonina) para poedeiras leves e semipesadas no período de 54 a 70 semanas de idade. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2006. 110p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – **Universidade Federal de Viçosa**, 2006.

DALE, N. Proteína ideal para pollos de engorde. In: **Avicultura Profissional**. V.11, n.3, p.104-107, 1994.

DEPPENMEIER U., HOFFMEISTER M., PRUST C. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, 60:233–242. 2002.

DIBNER, J. J. Utilization of supplemental methionine sources by primary cultures of chick hepatocytes. **Journal of Nutrition**, v.113, p.2216-2223, 1983.

DIBNER, J. J.; KNIGHT, C. D. Conversion of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and L-methionine in the broiler chick a stereospecific pathway. **Journal of Nutrition**, v.114, p.1716-1723, 1984.

DIBNER, J. J. et al. Absorption of ¹⁴C-2-hydroxy-4- (methylthio) butanoic acid (Alimet) from the hindgut of the broiler chick. **Poultry Science**, v.67, p.1314-1321, 1988.

FERNANDES, E. A., GUARATO, E. L., MURAKAMI, A. E. Efeito da temperatura e do período de armazenamento sobre a qualidade interna de ovos para consumo. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.9, n.107, p.58-61, 1983.

GERALDO, A. Aminoácidos sulfurosos, lisina, e treonina digestíveis para poedeiras comerciais leves em produção. **Lavras, MG:** UFLA, 189 p. Dissertação. 2006.

GIBSON G.R., ROBERFORID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota, introducing the connect of prebiotics. **Journal of Nutrition**, v.125, p.140-1412,1995.

HAN, Y.; et al. Absorption and bioavailability of DL-methionine hydroxy analogue compared to DL-methionine. **Poultry Science**, v.69, p.281-287, 1990.

HARMS, R. H., Russel, G. B. Optimizing egg mass with amino acid supplementation of a low protein diet. **Poultry Science**, v. 72, n.1, p. 1892-96, 1993.

HARMS, R. H., MILES, R. D. Influence of Fermatco on the performance of laying hens when fed different methionine levels. **Poultry Science**, v. 67, p.842-44. 1988.

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.

HASHIZUME, K., TSUKAHARA T., YAMADA K., KOYAMA H., USHIDA K., J. **Nutr.**, 133:3187–3190, 2003.

ISHIBASHI, T.; YONEMOCHI, C. Amino acid nutrition in egg production industry. **Animal Science Journal**, v.74, p.457-469, 2003.

JACOB, J.P.; IBRAHIM, S.; BLAIR, R. et al. Using enzyme supplemented, reduced protein diets to decrease nitrogen and phosphorus excretion of white leghorn hens. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, v.13, n.12, p.1743-1749, 2000.

JORDÃO FILHO, J., VILAR DA SILVA, J. H., SILVA, E. L. et. Al. Exigências nutricionais de lisina para poedeiras semipesadas. In Conferência **APINCO** de ciência e Tecnologia Avícolas – Trabalhos de Pesquisa. Anais... Santos, SP, p.61, 2003.

KAMEUE, C.; TSUKAHARA, T.; YAMADA, K. et al. Dietary sodium gluconate protects rats from large bowel cancer by stimulating butyrate production. **The Journal of Nutrition**, v.134, p.940-944, 2004.

KIM, W. K.; et al. The potential to reduce poultry nitrogen emissions with dietary methionine or methionine analogues supplementation. **World's Poultry Science Journal**, v. 62, p. 338-353, 2006.

LAMBERSON, W.R. & FIRMAN, D. A comparison of quadratic versus segmented regression procedures for estimating nutrient requirements. **Poultry Science**, v.81, p.481-484, 2002

- LEESON & SUMMERS J. D. **Nutrition of the chicken**. 4th edition. P. 591, 2001.
- LIU, Z.; et al. Estimation of Bioavailability of DL-Methionine Hydroxy Analogue Relative to DL-Methionine in Layers with Exponential and Slope-Ratio Models. **Poultry Science**, v. 83, p. 1580–1586, 2004a.
- LIU, Z.; et al. Bioavailability Estimation of DL-Methionine Hydroxy Analogue Relative to DL-Methionine in Layers Fed Milo-Soybean Diets Using Different Regression Models. **Journal Applied of Poultry Research**, v.13, p.461–467, 2004b.
- LIU, Z.; et al. Performance Comparisons Between DL-Methionine and DL-Methionine Hydroxy Analogue in Layers on an Unequal Molar Basis. **Journal Applied Poultry Research**, v. 14, p. 569–575, 2005.
- MACARI, Marcos., FURLAN, Renato Luis., GONZALES, Elizabeth. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte. Segunda Edição Ampliada**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375 p.
- MACFARLANE, G. T. & GIBSON, G. R. Microbiological aspects of the production of short-chain fatty acids in the large bowel. In: **Physiological and Clinical Aspects of Short-Chain Fatty Acids** (Cummings, J. H., Rombeau, J. L. & Sakata, T., eds.), pp. 87–105. Cambridge University Press, Cambridge, UK., 1995.
- MAIORKA, Alex et. al. **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte. Segunda Edição Ampliada**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. 375 p.
- MATEOS, G. G. Nutrición e alimentación de gallinas ponedoras. Eds. De Blas, C. y Mateos, G. G. **MAPA**. Madrid. Barcelona, 1991. 226-263p.
- MENDONÇA, B. P. Manejo alimentar de matrizes pesadas. In: Conferência **APINCO** 96 de Ciência e Tecnologia Avícola, 1996, Curitiba. Anais... Curitiba, p. 77-90. 1996.
- MORENG, R. E.; AVENS, J. S. **Ciência e Produção de aves**. São Paulo: Roca, 380p., 1990.
- NARVÁEZ-SOLARTE, W. V. Exigências em metionina+cistina para poedeiras leves e semipesadas. Viçosa, MG: UFV, 1996. 57p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – **Universidade Federal de Viçosa**, 1996.

NRC-NATIONAL RESEARCH CONCIL - Nutrient Requeriments of Poultry. 9. Ed. Washington, National Academy of Sciences, p. 155, 1994.

NELSON, D. L., COX, M. M. Lehninger – **Principles of Biochemistry**. Four edition, 1119p. 2006.

NITSAN, Z.; BEM-AURAHAM, G.; ZOREF, Z.; NIR, I. Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. **British Poultry Science**, v. 32, p. 515-523,1991a.

NITSAN, Z.; DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B. Organ growth and digestive enzymes lvels to fifteen days of age in lines of chickens differing in body weight. **Poultry Science**, v. 70, p. 2040-2048,1991b.

NOVAK C.; YAKOUT, H.; SCHEIDELER S. The Combined Effects of Dietary Lysine and Total Sulfur Amino Acid Level on Egg Production Parameters an Egg Components in Dekalb Delta Laying Hens. **Poultry Science**, v. 83, p. 977-984, 2004.

PARR, J. F.; SUMMERS, J. D. The effect of minimizing amino acid excess in broiler diets. **Poultry Science**, v. 70, p. 1540-1549, 1991.

PAVAN, A. C.; MÓRI, C.; GARCIA, E. A. et al. Níveis de Proteína Bruta e de aminoácidos Sulfurosos Totais sobre o desempenho, a Qualidade dos ovos e a Excreção de Nitrogênio de Poedeiras de Ovos Marrons. **Revista Brasileira de Zootecnia**, V:34, nº 2, p. 568-57, 2005.

PENS JR., A., M.; JENSEN, L. S. Influence of protein Concentration, Amino Acid Supplementation, and Daily Time of Acces to High or Low-protein Diets on Egg Weight and Components in Layng Hens. **Poultry Science**, v. 70, p. 2460-2466, 1991.

PETERSEN, C. F., SAUTER, E. A., STEELE, E. E. et al. Use of methionine intake restriction to improve egg shell quality by control of egg weight. **Poultry Science**, v.62:2044-2047, 1983.

POEIKHAMPHA, T.; BUNCHASAK, C.; KOONAWOOTRITTRIRON, S. et al. Effects of sodium gluconate on production performance and intestinal microorganisms of starter piglets. **International Conference on Integration of**

Science & Technology for Sustainable Development, Bangkok, Thailand.
v.26-27, p.74-77, 2007.

RATHMACHER, J. A. Measurement and significance of protein turnover. In:
Farm animal metabolism and nutrition. Wallingford: CAB International, p. 25-
48, 2000.

REID, B. L.; MADRID, A.; MALDRINO, P. M. Relative biopotency of three
methionine sources for laying hens. **Poultry Science**, v. 61, p. 726-730, 1982.

RODRIGUES, P. B.; et al. Fatores nutricionais que influenciam a qualidade do
ovo no segundo ciclo de produção. I. Níveis de aminoácidos sulfurosos
totais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.25, p. 248-260, 1996.

ROSTAGNO, Horácio Santiago et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos:
Composição de alimentos e exigências nutricionais.** Segunda edição. Viçosa:
UFV, Departamento de Zootecnia, 2005. 186 p.

SÁ, L. M. Exigência nutricional de lisina, metionina+cistina e treonina para
poedeiras leves e semipesadas no período de 34 a 50 semanas de idade. Viçosa,
MG: UFRV, 2005. 75p. **Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal
de Viçosa**, 2005.

SÁ, L. M., GOMES, P.C., ALBINO, L. F. T., ROSTAGNO, H. S. NASCIF, C. C.
Exigência nutricional de metionina+cistina digestível para galinhas poedeiras no
período de 34 a 50 semanas de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36,
n.6, p.1837-1845, 2007.

SAS INSTITUTE INC. **SAS System for Microsoft Windows**, Release 6.12.
Cary. NC,. USA, 2002.

SAKATA, T. Effects of short-chain fatty acids on the proliferation of gut epithelial
cells in vivo. In: **Physiological and Clinical Aspects of Short-Chain Fatty Acids**
(Cummings, J. H., Rombeau, J. L. & Sakata, T., eds.), pp. 289–305. Cambridge
University Press, Cambridge, UK, 1995.

SCHUTTE, J. B. Effects the protein dietary on environment. **Feed Mix**, v. 2, n. 4,
p. 28-31, 1994.

SHAFER, D. J.; CAREY, J. B.; PROCHASKA, J. F. Dietary methionine intake on egg component yield, composition, functionality and texture profile analysis. **Poultry Science**, v.77, p.1056-1062, 1998.

SHEHATA, A. T.; LERNAR, J.; MILLER, D. S. Development of nutrient transporter system in chick jejunum. **American Journal Physiology**, v. 246 (Gastrointest. Liver physiol.), p. G 101-107, 1984.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV. 1990. 166p.

SMITH, R. Added choline, methionine promote essential functions. **Feestuffs**, v.55, n.1, p.16-18, 1983.

SOHAIL, S. S.; BRYANT, M. M.; ROLAND, D. A. Influence of supplemental lysine, isoleucine, threonine, tryptophan and total sulfur amino acids on egg weight of Hy-Line W-36 hens. **Poultry Science**, v. 81, p.1038-1044, 2002.

SORIANO-GARCÍA, J. F.; et al. Multiple pathways for L-methionine transport in brush-border membrane vesicles from chicken jejunum. **The Journal of Physiology**, v. 509; p. 527-539, 1998.

TARACHAI, P. EYAMAUCHI, K. ; 2000. Effects of luminal nutrient absorption, intraluminal physical stimulation and intravenous parenteral alimentation on the recovery responses of duodenal villus morphology following feed withdrawal in chickens. **Poultry Science**, 79, 1578-1585.

TSUKAHARA, T.; KOYAMA, H.; OKADA, M. et al. Stimulation of butyrate production by gluconic acid in batch culture of pig cecal digesta and identification of butyrate-producing bacteria. **The Journal of Nutrition**, v.132, p. 2229-2234, 2002.

UNI, Z. et al. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. **Poultry Science**, 77, 75-82. 1998.

WALDROUP, P. W.; HELLWIG, H. M. METHIONINE AND TOTAL SULFUR AMINO ACID REQUIREMENTS INFLUENCED BY STAGE OF PRODUCTION. **JOURNAL APPLIED POULTRY SCIENCE**, V.4, P.283-292. 1995.