

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA  
FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MODELOS PARA ESTIMAR EXIGÊNCIAS  
NUTRICIONAIS DE AMINOÁCIDOS E RESPOSTA À  
INGESTÃO DE METIONINA:  
SISTEMA TRADICIONAL POR FASES X NUTRIÇÃO DE  
PRECISÃO**

Aline Remus

Zootecnista

2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA  
FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MODELOS PARA ESTIMAR EXIGÊNCIAS  
NUTRICIONAIS DE AMINOÁCIDOS E RESPOSTA À  
INGESTÃO DE METIONINA:  
SISTEMA TRADICIONAL POR FASES X NUTRIÇÃO DE  
PRECISÃO**

Aline Remus

Orientador: Prof. Dr. Luciano Hauschild

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.

2015

Remus, Aline  
R391m Modelos para estimar exigências nutricionais de aminoácidos e  
resposta à ingestão de metionina: sistema tradicional por fases x  
nutrição de precisão / Aline Remus. -- Jaboticabal, 2015  
xiv, 85 p. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015  
Orientador: Luciano Hauschild  
Banca examinadora: Nilva Kazue Sakomura, Melina Aparecida  
Bonato  
Bibliografia

1. Nutrição de Precisão. 2. Metionina: lisina. 3. Simulação. I. Título.  
II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias

CDU 636.084.5:636.4

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da  
Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de  
Jaboticabal.

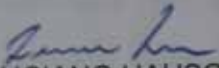
**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**TÍTULO:** MODELOS PARA ESTIMAR EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE AMINOÁCIDOS E RESPOSTA À INGESTÃO DE METIONINA: SISTEMA TRADICIONAL POR FASES X NUTRIÇÃO DE PRECISÃO

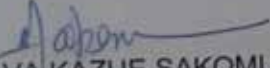
**AUTORA:** ALINE REMUS

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. LUCIANO HAUSCHILD

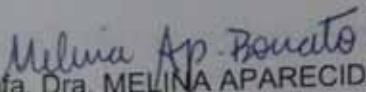
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM ZOOTECNIA , pela Comissão Examinadora:

  
Prof. Dr. LUCIANO HAUSCHILD

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

  
Profa. Dra. NILVA KAZUE SAKOMURA

Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

  
Profa. Dra. MELINA APARECIDA BONATO  
ICC BRAZIL / Jaboticabal/SP

Data da realização: 05 de janeiro de 2015.

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ALINE REMUS – nascida em São Valentim – RS, no dia 28 de abril de 1989. Técnica em Agropecuária com ênfase em Zootecnia pela Escola Agrotécnica Federal de Sertão (atual IFFRS-Campus de Sertão) obtendo esse título em Julho de 2007. Mesmo mês em que ingressou no curso de Zootecnia – Ênfase em sistemas orgânicos de produção animal, do Centro de Educação Superior do Oeste, Universidade do Estado de Santa Catarina, Chapecó (CEO – UDESC), transferindo a graduação para Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) ingressando no curso de Zootecnia em março de 2010 e concluindo em dezembro de 2012. Durante a graduação foi bolsista de extensão (FAPERGS) e iniciação científica (CNPq) no Grupo de Modelagem animal da UFSM sendo orientada do Prof. Dr. Paulo Alberto Lovatto (*In memoriam*) e durante o estágio de conclusão de curso foi bolsista de treinamento técnico nível 2 (FAPESP) sob supervisão do Prof. Dr. Luciano Hauschild. Em março de 2013 iniciou o curso de Mestrado pelo Programa de Pós Graduação em Zootecnia, na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV–UNESP), Campus de Jaboticabal, como bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) realizando parte do mestrado no Agriculture and Agri-Food Canada sob supervisão do Dr. Candido Pomar. Obteve o título de Mestre em Zootecnia em janeiro de 2015 sob a orientação do Prof. Dr. Luciano Hauschild.

“Quem nunca errou nunca experimentou nada novo.” (Albert Einstein)

“Anyone who has never made a mistake has never tried anything new.” (Albert Einstein)

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus amados pais Valdir e Ida Remus, que arduamente trabalharam que privaram-se de muito para que fosse possível que eu estudasse e chegasse à esse momento de minha vida. Ao saudoso e querido Professor Paulo Alberto Lovatto e sua equipe de Modelagem Animal que acreditaram em mim quando nem eu mesma acreditava. Pelo suporte, por acreditar e pela paciência em momentos de crise, dedico.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, ao universo, ao criador, aos átomos... Independe da fé: à luz que nos guia!

Ao meu orientador Prof. Dr. Luciano Hauschild, pelo convite para conhecer e fazer parte da FCAV-UNESP e com isso me proporcionar integrar sua maravilhosa equipe. Especialmente, por muitas vezes ser mais amigo que orientador, entender as fraquezas, escutar as ideias e apoiar as decisões.

À “minha equipe” e “agregados” que trilharam esse caminho comigo, estiveram presentes em cada momento, bom ou ruim, perto ou distante. Que trabalharam incansavelmente, suportaram meu mau humor e entenderam a seriedade de minhas proposições. Irei nominá-los em ordem alfabética, uma vez que independente do momento todos foram de extrema importância nessa fase de minha vida e os levarei sempre em meu coração, pois serei eternamente grata: Dani, Elaine, Francine, Ines, Jaqueline, Leury, Mirella, Marcos, Raquel, Renan, Welex. Aos funcionários do Setor de Suinocultura da UNESP: José e Wilson.

Ao Agriculture and Agri-Food Canada pelo suporte físico e intelectual, especialmente ao Dr. Candido Pomar pela acolhida, suporte e orientação. Também à sua equipe: Normand Ouellet, Marcel Marcoux e Enrique Gonzalo pela dedicação e empenho em me integrar e ensinar novas técnicas.

Aos amigos Carla, Carlos, Francine, Leury, Fabrícia, Gabriela, Franciele, Leticia, Jaqueline, Melina, Renan, Elaine, Maria Clara, Livia, Ines, Marcos, Cheila, Douglas, Luciana, Sophie, Enrique, Nuria, Sabine, Aurelie, Noémie, Luca, Izabella. E o que seria de um pós-graduando sem amigos para dividir as angustias, comemorar os sucessos e fazer coisas malucas?!

À banca de qualificação e defesa que contribuíram para o aperfeiçoamento deste trabalho.

À FAPESP pela bolsa de mestrado no país e de pesquisa no exterior. Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da FCAV-UNESP e seus professores pela grande oportunidade e conhecimentos divididos.



## SUMÁRIO

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS.....	xi
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	17
1. Introdução .....	17
2. Revisão de literatura .....	19
2.1. Caracterização da metionina.....	19
2.2. Absorção e metabolismo da metionina.....	20
2.3. Respostas metabólicas a ingestão de metionina .....	21
2.4. Relação metionina+cistina .....	23
2.5. Problemática da variabilidade animal e a utilização de um novo sistema de alimentação de suínos .....	24
2.6. Determinação de exigências nutricionais .....	25
2.7. Resposta animal em diferentes ingestões de metionina: um estudo meta- analítico.....	26
2.8. Resposta animal em diferentes ingestões de metionina: sistema individual diário .....	27
CAPÍTULO 2 - ESTUDO EXPLORATÓRIO DO EFEITO DE UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES FONTES DE METIONINA E DA RELAÇÃO METIONINA:LISINA PARA SUÍNOS DA FASE INICIAL À TERMINAÇÃO.....	33
1. Introdução.....	35
2. Material e métodos.....	36
2.2. Construção da base, codificação e filtragem dos dados .....	37
2.3. Descrição da base.....	38
2.4. Análise gráfica e de correlação .....	39
2.5. Análise de fatores.....	39
2.6. Análise de variância-covariância .....	41
2.7. Análise por modelos não lineares .....	41

3. Resultados .....	42
3.1. Resultados de pesquisa .....	42
3.2. Análise gráfica e de correlação .....	44
3.3. Análise de fatores.....	45
3.4. Resultados para análise de variância-covariância .....	47
3.5. Determinação da relação ideal metionina: lisina .....	48
4. Discussão.....	49
4.1. Padronização de pesquisa .....	49
4.2. Utilização da análise gráfica.....	50
4.3. Análise de fatores.....	51
4.4. Desempenho de leitões suplementados com diferentes fontes de metionina .....	52
4.5. Relação metionina: lisina.....	52
5. Conclusão.....	54
6. Agradecimentos.....	54
7. Referências bibliográficas.....	55
CAPÍTULO 3 - GROWING PIGS' SIMULATED AMINO ACID REQUIREMENTS DIFFERS BETWEEN ACTUAL FACTORIAL METHODS .....	58
INTRODUCTION.....	61
MATERIAL AND METHODS .....	62
RESULTS AND DISCUSSION .....	65
The requirements estimation: population x individual.....	65
The models recommendations: the lysine content/Kcal of net energy.....	67
IMPLICATIONS.....	69
REFERENCES.....	69
CAPÍTULO 4 – RESPONSE TO METHIONINE INTAKE OF GROWING PIGS FED INDIVIDUALLY AND DAILY DIFFERS FROM THAT GROWING PIGS INSIDE TRADITIONAL PHASE FED PROGRAM.....	72

INTRODUCTION.....	75
MATERIALS AND METHODS.....	76
Animals, Housing and Management.....	76
Programs, nutritional requirements and diets.....	77
Experimental measurements.....	81
Blood sampling.....	81
Chemical analysis .....	82
Calculations and statistical analysis .....	82
RESULTS AND DISCUSSION .....	83
Growth performance, nutritional parameters and carcass parameters.....	83
Plasmatic parameters.....	88
REFERENCES.....	91
CAPÍTULO 5 – Considerações finais .....	96

**CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

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



**CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo nº 016870/13 do trabalho de pesquisa intitulado **"Sistemas integrados de nutrição de precisão para suínos: desenvolvimento de um novo método para estimar exigências em metionina"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Luciano Hauschild está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 08 de agosto de 2013.

Jaboticabal, 08 de agosto de 2013.

  
**Prof. Dr. Andriago Barboza De Nardi**  
Coordenador - CEUA

## MODELOS PARA ESTIMAR EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE AMINOÁCIDOS E RESPOSTA À INGESTÃO DE METIONINA: SISTEMA TRADICIONAL POR FASES X NUTRIÇÃO DE PRECISÃO

**RESUMO** – Objetivou-se através dessa dissertação embasar os primeiros passos para desenvolver uma nova maneira de estimar as exigências nutricionais de metionina para suínos alimentados individualmente. O primeiro passo foi uma meta-análise conduzida objetivando estudar a resposta de suínos alimentados com diferentes tipos de metionina, bem como quantificar a relação ideal de metionina: lisina para leitões da fase inicial a terminação. A base de dados foi composta por 41 artigos. Para determinação da relação metionina: lisina, 83% dos artigos da base foram excluídos pois não atendiam a exigência de lisina. Para análise de fontes de metionina foram utilizados 21 artigos para fase inicial não havendo diferença ( $P < 0.05$ ) entre L-metionina, DL-metionina e metionina hidroxianáloga. A relação mínima de metionina: lisina encontrado foi de 26% de inclusão de metionina em função da exigência de lisina, uma relação menor que essa poderá representar perdas significativas no desempenho. Na sequência foi realizado uma simulação com modelos fatoriais utilizados na suinocultura (Tabelas brasileiras de exigências nutricionais para suínos e aves (BT) e o NRC 2012), objetivando compará-los com o modelo do “*Automatic and intelligent Precision feeder*” (AIPF). Foram utilizados dados de 36 suínos com peso inicial de 25 kg, por um período de 28 dias. Peso corporal, consumo de ração e ganho médio foram standardizados. Concluiu-se que os modelos NRC e BT foram calibrados para estimar as exigências de resposta máxima da população, assim, superestimam as necessidades do indivíduo médio em mais de 13%. Além disso, usar a exigência de um suíno médio, no

meio da fase de alimentação para estimar as exigências de uma população, é uma prática que tem de ser feita com cuidado. Isso devido à grande variação nas exigências nutricionais que existem entre os suínos de uma mesma população. Finalmente os modelos AIPF e BT foram utilizados em um experimento fatorial 2x3: dois sistemas de alimentação: alimentação individual e diária x alimentação em grupo por fases. E três níveis de metionina: 70%, 100% e 130%. Objetivou-se estudar a resposta à ingestão de metionina dentro dos dois sistemas de alimentação. Foram utilizados 60 leitões com peso inicial de 25 kg, durante 28 dias de experimentação. Foram analisadas variáveis de desempenho (CDR, GMDP, EA), de carcaça (área de olho de lombo e espessura de toucinho) e variáveis plasmáticas (ALT, AST, Creatinina, triglicerídeos, Proteína C-reativa, nitrogênio uréia plasmático e proteínas totais). Os resultados de desempenho sugerem que os níveis de metionina tem sido subestimados para indivíduos, sinalizando para uma possível diferença de na relação ideal metionina: lisina para os indivíduos. Os resultados plasmáticos não mostraram evidências de toxicidade por metionina em qualquer um dos programas de alimentação ( $P>0,05$ ). O programa de alimentação individual e diário apresentou resposta linear ( $P<0,05$ ) de profundidade no *longissimus dorsi* para o aumento da relação metionina: lisina, enquanto dentro do programa fase tradicional não teve resposta ( $P>0,05$ ).

**Palavras-chave:** nutrição de precisão, metionina: lisina, simulação de exigências nutricionais.

**MODELS TO ESTIMATE AMINO ACID NUTRITIONAL  
REQUIREMENTS AND RESPONSE TO METHIONINE INTAKE:  
TRADITIONAL PHASE SYSTEM X PRECISION NUTRITION**

**ABSTRACT** - The aim of this dissertation is to support the first steps to develop a new method to estimate methionine nutritional requirements for the pigs fed individually. The first step of this dissertation was perform a meta-analysis in order to study the response of pigs fed with different types of methionine and to quantify the ideal ratio of methionine: lysine for piglets from the initial phase to termination. The database consisted of 41 papers. To determine the methionine: lysine ratios, 83% of papers in the database were excluded because they did not meet the pigs requirement for lysine. For analysis of methionine sources were used 21 papers from initial phase, and it had no difference ( $P < 0.05$ ) between L-methionine, DL-methionine and methionine hydroxy-analogue. The minimum methionine: lysine ratio found was 26% methionine inclusion in function of lysine requirement. In sequence was performed a simulation study using factorials models used in pig farming (Brazilian tables of nutritional requirements for pigs and poultry (BT) and the NRC 2012), in order to compare them with the model "Automatic and intelligent Precision feeder" (AIPF). Data from 36 pigs were used with initial body weight of 25 kg for a period of 28 days. Body weight, feed intake and average daily gain were standardized. It was concluded that the NRC and BT models were calibrated to estimate the maximum response requirements of the population, thus overestimate the average pig requirement in more than 13%. In addition, the requirement of using an average pig in the middle of the feeding phase to estimate the requirements of a population, is a practice which must be handled with care. This is due to the wide variation in nutritional requirements that exist between the pigs from the same population. Finally the AIPF and BT models were used in a trial. The pigs were arranged in a randomized design, 2x3 factorial randomized design: two feeding programs (individual daily program (IDP) or a conventional 1 phase program (1PP), and three methionine levels (70%, 100% or 130% of ideal level). A total of 60 piglets with initial weight of 25 kg for 28 days of trial. Performance variables were analyzed (DFI, ADG, G:F),

carcass (loin depth and backfat thickness) and serum parameters (ALT, AST, creatinine, triglycerides, C-reactive protein, nitrogen urea serum, and total protein). Performance results suggest that methionine levels have been underestimated for individuals ( $P < 0.05$ ), signaling a possible difference in the ideal methionine: lysine for individuals. The plasma results showed no evidence of methionine toxicity in any of the feeding programs ( $P > 0.05$ ). The daily and individual feeding program showed a linear response ( $P < 0.05$ ) in the *longissimus dorsi* deep for increasing methionine: lysine ratio, while within the traditional phase program had no response ( $P > 0.05$ ).

**Keywords:** precision nutrition, methionine: lysine, nutritional requirements simulation.



## **CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **1. Introdução**

O Brasil possui uma população de 35 milhões de suínos e foi responsável por uma produção de 3,49 milhões de toneladas de carne suína em 2012 (ABPA, 2013). O custo de alimentação dessa população gira em torno de 70% dos custos totais de produção (FIALHO et al., 2009). Isto impacta diretamente na lucratividade dessa atividade. Além de questões econômicas, estudos de âmbito ambiental sobre a excreção de nitrogênio (N) e fósforo (P) por suínos têm apontando índices alarmantes de 147 mil toneladas de nitrogênio e 35 mil toneladas de fósforo excretadas para o ambiente por ano (LOVATTO et al., 2005). Recorrentes crises econômicas no setor suínico brasileiro e sucessivos problemas ambientais ligados a atividade demandam, portanto, inovações científicas e tecnológicas para essa problemática.

As pesquisas em alimentação e nutrição estão focadas em estudar principalmente três aspectos: a composição nutricional e digestibilidade dos ingredientes, exigências nutricionais dos animais e a resposta animal em termos de retenção e excreção de nutrientes (WHITTEMORE; GREEN; SCHOFIELD, 2001). Com base nesses aspectos, na indústria os programas nutricionais têm sido estabelecidos pelo balanço entre a quantidade de nutrientes dos ingredientes com as exigências nutricionais dos animais (PATIENCE, 1996). As dietas estabelecidas são fornecidas através de uma alimentação por fases. Essa técnica envolve fornecer um número sucessivo de dietas aos animais com o objetivo de atender as exigências dos animais em função da idade ou peso vivo.

As exigências de um nutriente podem ser definidas como a quantidade de nutrientes necessária para atingir objetivos específicos de produção como maximizar o ganho de peso, ganho de tecido magro e melhorar a conversão alimentar (FULLER, 2004). Entretanto, a intensificação da indústria tem forçado os nutricionistas para desenvolverem estratégias nutricionais onde outros objetivos de produção, além da máxima resposta, devem ser também otimizados. Além disso, existe uma pressão para realização de pesquisas direcionadas para uma nutrição mais precisa (“Nutrição de Precisão”) com o

objetivo de estimar o potencial nutritivo dos ingredientes e as exigências nutricionais com melhor acurácia em relação ao estado fisiológico do animal em condições de produção.

A nutrição de precisão é um conceito agrícola que considera aspectos de variabilidade inter e intra-indivíduos (WATHES et al., 2008). Esta variabilidade resulta das diferenças entre os animais no que se refere à genética, idade e peso. Além dessa variação intrínseca ao animal existe também a variação extrínseca. Essa variação refere-se a fatores externos que influenciam o desempenho dos animais e as exigências nutricionais. Cada animal reage de diferente maneira a esses efeitos o que pode aumentar a variabilidade entre os animais (WELLOCK; EMMANS; KYRIAZAKIS, 2004). A nutrição de precisão visa, portanto considerar esses aspectos e vem ao encontro de estudos que demonstraram a importância de considerar a variabilidade entre e intra-animais na avaliação da resposta biológica e nos programas nutricionais (KNAP, 2000; POMAR et al., 2003; HAUSCHILD; POMAR; LOVATTO, 2010).

As divergências sobre a relação ideal metionina: lisina, a toxicidade da metionina levantam questões interessantes quanto à resposta de uma população alimentada com metionina e a resposta de indivíduos. Os dados quanto ao nível mínimo de metionina para que uma população de suínos não perca em desempenho, bem como se o tipo de metionina influencia nessa resposta parecem ainda obscuros. Mais que isso, seria possível que o modelo matemático utilizado para determinar as exigências nutricionais de uma população possa influenciar nessa determinação ideal do nível de metionina? E por fim, a resposta à ingestão de metionina por indivíduos pode ser diferente da resposta de uma população?

Esta dissertação irá abordar questões referentes à exigência nutricional de metionina considerando sua relação com a lisina, através de um estudo meta-analítico no capítulo 1, bem como a diferença entre os tipos de metionina para leitões de fase inicial. Esta meta-análise busca mostrar os principais problemas metodológicos nas pesquisas para determinação de exigência de metionina, embasando e homogeneizando os estudos seguintes. No capítulo 3, será discutida a diferença entre métodos fatorais para estimação de exigências

nutricionais através de simulação. Por fim o capítulo 4 irá abordar a diferença na resposta a ingestão de metionina em um sistema convencional por fases utilizando um método fatorial de estimação de exigências nutricionais, comparado com um sistema individual e diário de alimentação utilizando um modelo que considera a variabilidade inter e intra-animais. Objetiva-se através dessa dissertação embasar os primeiros passos para desenvolver uma nova maneira de estimar as exigências nutricionais de metionina para suínos alimentados individualmente.

## **2. Revisão de literatura**

### **2.1. Caracterização da metionina**

A suplementação de dietas utilizando aminoácidos sintéticos é umas das práticas nutricionais que visam minimizar o impacto ambiental causado pela excreção de N no ambiente. Além disso, a adição de aminoácidos sintéticos na dieta potencializa os resultados de desempenho e qualidade de carcaça dos suínos (D'MELLO, 2003). A metionina é um aminoácido essencial na dieta de todas as espécies e é nomeada dessa maneira devido ao nome químico: ácido 2-amino-4-(metiltio)-butírico. Este é o segundo aminoácido limitante na dieta de suínos e pode se tornar o primeiro aminoácido limitante em dietas de leitões alimentados com fontes proteicas ricas em lisina, mas pobres em metionina (NCR, 2012). A metionina, assim como a cisteína (ou cistina), são classificados como aminoácidos sulfurados por possuírem uma molécula de enxofre na sua composição química.

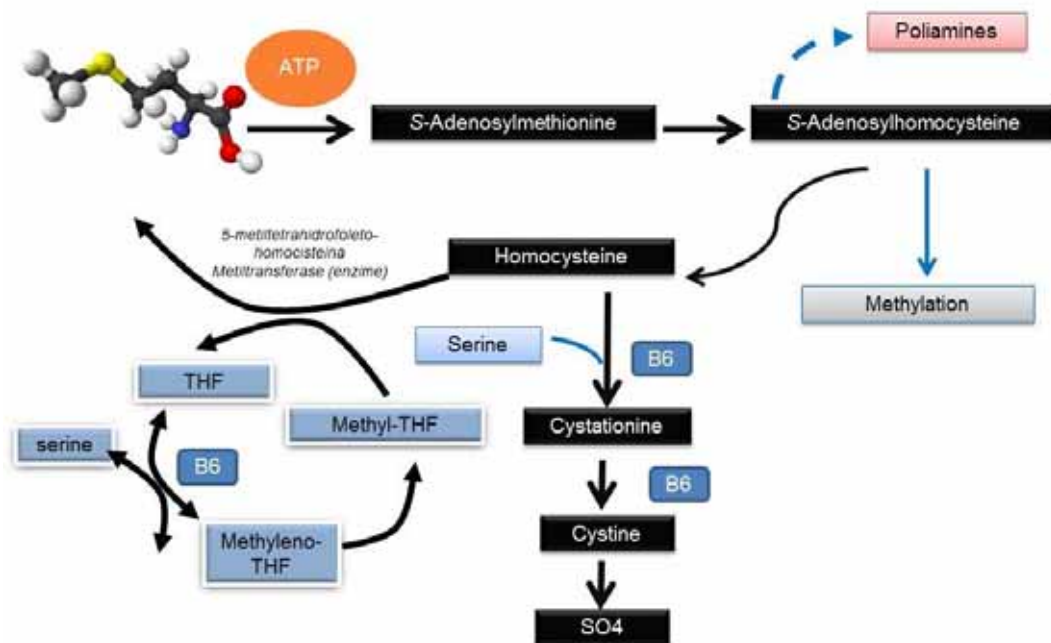
Além de compor moléculas de proteína, sendo importante na exigência de crescimento, a metionina é fundamental nas reações metabólicas como a metilação do DNA e síntese de carnitina a partir da lisina, adrenalina a partir da noradrenalina e a creatinina a partir do acetato de guanidina, sendo comumente chamada de “doadora de metil” (D'MELLO, 2003). A metionina também tem participação ativa na formação de proteína de resposta imune e proteção hepática (KLASING, 2007). Assim animais desafiados aumentam sua exigência por metionina (RAKHSHANDEH et al., 2014) impactando no aumento da exigência de manutenção.

## 2.2. Absorção e metabolismo da metionina

A proteína é composta por cadeias polipeptídicas, dentro das quais se encontram as moléculas de metionina. Portanto para a liberação de aminoácidos inicialmente é necessária a quebra da proteína em cadeias peptídicas pelo suco gástrico estomacal especialmente pela ação de HCl e ação de pepsina gástrica. Essas cadeias adentram o intestino delgado e o pH ácido do bolo intestinal estimula a secreção de secretina desencadeando a liberação de  $\text{HCO}_3$  (bicarbonato) no intuito de aumentar o pH intestinal. Juntamente com a liberação de secretina ocorre a liberação de colicistoquinina que tem 3 funções básicas: sinalizar a diminuição da motilidade estomacal, estimular a produção hormonal pancreática e liberação de suco biliar pelo fígado. Os zimogênios secretados pelo pâncreas serão ativados em sua forma enzimática na luz intestinal, a tripsina hidrolisa os aminoácidos básicos, a quimiotripsina hidrolisa ligações entre aminoácidos de cadeia aromática, já as carboxipeptidases A e B hidrolisam os peptídeos cuja a porção final engloba um grupo carboxila  $\text{COO}^-$  (dentre os quais os aminoácidos sulfurados) e finalmente a elastase hidrolisa os aminoácidos de grupo R neutros (OLIVEIRA NETO, 2014). As aminopeptidases presentes nas extremidades das vilosidades intestinais finalizam a quebra de di e tri peptídeos em aminoácidos livres e ocorre então o transporte por carreadores específicos para dentro do epitélio. Após a absorção epitelial inicia-se o metabolismo de metionina em S-adenosil-metionina e desse em S-adenosilhomocisteína (Figura 1). Conversões da quais resultam um grupo metil passível de utilização nas reações previamente descritas.

A homocisteína é derivada da metionina após sua utilização nas reações biológicas de metilação como doadora do grupo metil. Para que a metionina entre nessas reações ela necessita inicialmente se condensar com um ATP resultando na principal doadora na metilação a S-Adenosil-Metionina (SAM) que é transformada em S-Adenosil-homocisteína (SAH) após a doação do grupo metil. Essa por sua vez doa a homocisteína para um reação reversível que favorece sempre a produção de SAH em função de homocisteína (TROEN et al., 2003). Como a SAH é um importante inibidor das enzimas

metiltransferases a homocisteína é constantemente removida através da ajuda do folato e B12 sendo remetilada à metionina. Ou ainda pode ser irreversivelmente transulfurada, com ajuda da vitamina B6 e serina, em cistationina e finalmente originar a cisteína. Se ocorrer um acúmulo exacerbado de homocisteína ela pode ser exportada para os rins e fígado para que seja eliminada. A metionina entra no ciclo essencialmente oriunda da dieta, contudo pode também ser obtida da degradação de proteína endógenas. De modo geral, a metionina ela pode ser removida do ciclo para o uso na síntese proteica ou de poliaminas, ou pela via de transulfuração.



**Figura 1.** Via de transulfuração de aminoácidos, adaptado de Troen et al. (2003).

### 2.3. Respostas metabólicas a ingestão de metionina

Apesar de ser uma ideia fundamentada e concretizada, o modo como é feita a suplementação de aminoácidos atualmente pode resultar em um desbalanço aminoacídico. Se não forem fornecidos aminoácidos na quantidade e relação adequada, a síntese proteica poderá ocorrer somente até o primeiro

aminoácido limitante. A partir desse ponto os aminoácidos em excesso ou impossíveis de utilização na síntese proteica passam a ser desaminados. O grupamento amina é convertido em ureia e excretado, enquanto o esqueleto carbonado é utilizado para geração de energia (BERTECHINI, 2006). Isso aumenta o incremento calórico, o que resulta em um gasto energético desnecessário. Além disso, ocorre um aumento plausível da excreção de N para o ambiente. Se por um lado a falta desse aminoácido essencial pode limitar a síntese proteica o excesso deste nutriente também pode ser prejudicial. O excesso de metionina acima de 20 g kg<sup>-1</sup> na ração de suínos em crescimento, ocasiona perdas em ganho de peso, consumo alimentar e piora da conversão alimentar (D'MELLO, 2003). Dessa forma é importante que se determine a correta exigência de aminoácidos.

Porém a exigência de aminoácidos de não-ruminantes pode ser dependente da forma química desse nutriente. Os aminoácidos passíveis de utilização direta na síntese proteica se apresentam na forma L-aminoácido (NELSON; LEHNINGER; COX, 2008). A maior parte dos aminoácidos que se apresentam na forma D-aminoácido podem ser convertidos para a forma L desde que haja N disponível, dentre outros fatores determinantes na transaminação hepática (D'MELLO, 2003). Tendo por base esses conceitos bioquímicos surgiu a ideia de utilizar aminoácidos sintéticos na forma DL-aminoácido e a utilização de hidroxí-análogos. Estes são caracterizados como alfa-cetoácidos, ou seja, o esqueleto carbonado de um aminoácido mas sem o grupo amina. O preceito básico é que o alfa-cetoácido se liga ao N circulante proveniente da desaminação de proteínas e é convertido a forma de L-aminoácido (BERTECHINI, 2006). Diversos estudos afirmam que a metionina em suas diferentes formas químicas é passível de suplementação em base equivalente (CHUNG; BAKER, 1992; KNIGHT et al., 1998). Porém em um estudo recente (FENG et al., 2006) isso é contraposto: a eficiência de um DL-aminoácido é de 99% quando comparado a um L-aminoácido, já um DL-aminoácido hidroxí-análogo apresenta uma eficiência de 88%.

Concentrações de metionina abaixo da exigência por mamíferos podem resultar em níveis elevados de lipídeos circulantes por falta do transportador de carnitina, sintetizada a partir dos aminoácidos lisina e metionina (VAZ; WANDERS, 2002). Além das limitações de desempenho e ambientais citadas

anteriormente do mesmo modo que o excesso de metionina. Este por sua vez, causa severas alterações metabólicas em mamíferos (HARDWICK et al., 1970). A toxicidade de metionina é mais pronunciada do que de outros aminoácidos porque o nível ótimo de ingestão de metionina é próximo do nível de toxicidade.

A metionina por si só não é o único responsável por sua toxicidade. Esse aminoácido é precursor da homocisteína, principal metabólito responsável pela doença vascular oclusiva (MCCULLY, 1969). A concentração de homocisteína irá regular o consumo de metionina, assim como as vias de transmetilação e transulfuração (TOUE et al., 2006). Ou seja, níveis extremamente altos de concentração de metionina plasmática (hipermetilanemia) podem ser devidos a erros do metabolismo (MUDD; LEVY; ABELES, 1969), não somente a um excesso na alimentação. Em estudo conduzido com ratos (TOUE et al., 2006) com níveis adicionais de metionina de 0, 0,3, 0,6, 1,2 e 2,4 % foram observadas modificações em 166 metabólitos. Destacando aqui, indicadores de anemia como hematócrito, hemoglobina e hemoglobina corpuscular média. Além da alteração de outros parâmetros bioquímicos plasmáticos como de alanina aminotransferase, creatina fosfoquinase, lactato desidrogenase, colesterol total, ureia plasmática, creatinina. Também foram afetadas variáveis de desempenho como consumo e ganho de peso.

#### 2.4. Relação metionina+cistina

A cistina é um aminoácido não essencial quando a metionina está presente na dieta em níveis capazes de suprir a demanda por aminoácidos sulfurados (AAS). Além disso, a metionina pode ser transulfurada em cistina, enquanto a via contrária não pode acontecer. A cistina não é capaz de fornecer substrato passível de remetilação da homocisteína em metionina, sendo uma via irreversível (D'MELLO, 2003).

Como a metionina por si só poderia atender as exigências de AAS, a importância da cistina se dá principalmente pela composição das dietas de suínos, no Brasil, principalmente milho e farelo de soja. Grãos de milho são pobres em metionina, porém apresentam concentrações consideráveis de cistina, pensando em termos de composição total a quantidade de milho pode

representar até 80% da dieta e com isso uma grande inclusão de cistina. A inclusão deste aminoácido pode representar uma diminuição na exigência de metionina, tendo em vista que a cistina pode suprir até 50% da exigência de AAS (CHUNG; BAKER, 1992). Por isso, é importante considerar o nível de metionina+cistina das dietas, mantendo uma relação entre elas em torno de 54% (QIAO et al., 2008).

## 2.5. Problemática da variabilidade animal e a utilização de um novo sistema de alimentação de suínos

A maioria das dietas são formuladas utilizando programas lineares de formulação que buscam maximizar ou minimizar um parâmetro (PATIENCE, 1996). Os programas lineares de custo mínimo são comumente utilizados. O problema é que esse sistema não considera a excreção ambiental de nutrientes (JEAN DIT BAILLEUL et al., 2001). Visando maximizar a eficiência produtiva excretando uma menor quantidade de resíduos poluentes foi proposta a aplicação de um sistema de alimentação individual e diário para suínos utilizando o “*Automatic and Intelligent Precision Feeder*” (AIPF) (POMAR et al., 2009). Esse sistema considera a variabilidade inter e intra-animal, ou seja, a dieta é fornecida de acordo com a necessidade individual e de forma diária. Com a utilização desse sistema, estima-se uma redução de 4,6% no custo de produção e 38% de redução na excreção de fósforo e nitrogênio. Isso é possível devido ao sistema integrar conhecimentos técnicos-científicos na formulação da dieta, modelagem do crescimento de suínos e estimação do impacto ambiental.

Devido a prover uma nutrição adequada, esse sistema, permite também melhorar aspectos relacionados à sanidade, bem estar e ambiente dos animais. Entretanto, a eficiência desses sistemas no que se refere a nutrição está relacionada a uma determinação precisa do valor nutritivo dos alimentos e das exigências nutricionais dos animais e uma formulação de dietas que ajuste de forma concomitante o aporte de nutrientes às exigências dos animais. Este requer o conhecimento das exigências nutricionais de uma população em função da sua variabilidade animal, atual estado e da evolução do consumo e



crescimento no tempo (POMAR et al., 2009).

## 2.6. Determinação de exigências nutricionais

As exigências nutricionais atualmente ainda são estimadas utilizando os métodos fatorial ou empírico com base populacional, não considerando a variabilidade animal (POMAR et al., 2009). O método empírico estima a exigência visando maximizar ou minimizar algum parâmetro (por exemplo: ganho médio diário de peso), geralmente tendo seus resultados baseados em experimentos dose-resposta. Já o fatorial visa integrar as exigências para manutenção e produção (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2007), mas ainda assim não considera a variabilidade animal.

Buscando solucionar a problemática referente à exigência nutricional interligada a variabilidade animal, foi proposto um modelo (HAUSCHILD et al., 2012) de predição de exigências integrando dois componentes, um empírico e outro mecanicista. O funcionamento básico do modelo requer ao menos sete medições de consumo diário individual de ração (CDR) e ao menos duas de peso corporal (PC). O modelo empírico utiliza essas informações para estimar o CDR, proteína corporal (PC) e ganho de peso diário (GPD). O modelo mecanicista integrando essas variáveis permite estimar as exigências utilizando equações fatoriais. Um estudo foi realizado para avaliar o sistema quando estimando exigências diárias de lisina para suínos em crescimento (25 a 55 kg) e terminação (70 a 100 kg) (ZHANG et al., 2012). Os resultados desse estudo demonstram que o modelo é capaz de estimar exigências diárias e individual de lisina.

A partir da determinação do nível de lisina na dieta pelo componente mecanicista, é determinada a exigência dos demais aminoácidos tendo por base a relação apresentada pelo NRC (2012). Porém, diversos estudos (KENDALL et al., 2002; GAINES et al., 2003; GAINES et al., 2005) sugerem que a relação lisina:aminoácidos sulfurados proposta pelo NRC não atende as exigências para máximo desempenho para as novas linhagens genéticas. Devido ao modo como o componente mecanicista do modelo funciona, é necessário um maior embasamento com relação ao nível, tipo de metionina

convencionalmente utilizados para a população suína com objetivo de máximo desempenho. Sendo de fundamental importância estudar a relação metionina: lisina.

### 2.7. Resposta animal em diferentes ingestões de metionina: um estudo meta-analítico

Os dados encontrados na literatura, referentes ao nível, tipo de metionina e relação lisina:metionina apresentam resultados contraditórios e muitas vezes pouco conclusivos. Parte da variabilidade observada nos trabalhos já publicados pode estar relacionada com a diversidade de fatores experimentais que podem influenciar na resposta dos animais à suplementação com diferentes fontes e níveis de metionina. Para tanto a técnica de meta-análise parece se apresentar como uma alternativa viável. A meta-análise busca ajustar os resultados para a diversidade experimental (LOVATTO et al., 2007). Tendo por essência resumir e quantificar o conhecimento adquirido através de experimentos anteriores (ST-PIERRE, 2007). Devido a suas propriedades analíticas, a meta-análise permite aumentar o número de observações (n) detectando diferenças que não seriam notadas em populações menores.

Um estudo meta-analítico pode ser caracterizado como uma compilação de dados e utilização de ferramentas estatísticas adequadas para quantificar e extrair informações de uso prático. Essa definição é baseada nos conceitos de meta-análise publicados por Lovatto et al., (2007) e St-Pierre (2007). Outro conceito aplicável para meta-análise é de Glass (1976; apud BUSHMAN, 1999) onde essa técnica é definida como a análise de análises, utilizando a inferência estatística de estudos individuais integrando diferentes estudos para chegar ao um resultado final a partir dessa compilação. A diferença entre uma meta-análise e estudos tradicionais de revisão bibliográfica não se dá apenas pela primeira quantificar resultados, mas também por ser passível de uso como ferramenta de tomada de decisão (ST-PIERRE, 2007). E por ser capaz de aplicação prática dentro de diversas áreas como a geração de modelos empíricos de respostas biológicas até complexos modelos mecanicistas (SAUVANT et al., 2008).

A meta-análise surgiu na área de ciências sociais e da saúde, sendo originalmente pensada por Tippet (1931), Fisher (1932) e Pearson (1933), mas aplicada por Smith e Glass em 1977 (LOVATTO et al., 2007). A utilização de meta-análise dentro da área de nutrição animal apresenta-se com uma ferramenta importante principalmente na determinação de exigências nutricionais e geração de modelos aplicáveis, em especial, na nutrição de precisão.

A utilização de bases de dados com diferentes populações, genéticas e em diferentes ambientes permite ao pesquisador criar modelos empíricos caracterizando a resposta animal sob determinada prática nutricional (SAUVANT et al., 2008). Essa resposta é baseada no resultado de cada estudo compilado na base, tendo por parâmetro o resultado de uma população. Podendo ser considerado, por exemplo, como entrada do modelo diferentes níveis do nutriente em diversos experimentos dose-resposta. E como saída, variando de acordo com o objetivo, o desempenho animal, características de carcaça e concentrações plasmáticas e nas excretas do nutriente em questão.

#### 2.8. Resposta animal em diferentes ingestões de metionina: sistema individual diário

Quando aplicado o sistema convencional de alimentação apoiado no atual sistema de determinação de exigências nutricionais, é possível que indivíduos de um mesmo rebanho apresentem respostas diferentes a alimentação (POMAR et al., 2013). Um indivíduo pode estar recebendo uma quantidade de metionina inferior a sua exigência enquanto outro pode estar recebendo uma quantidade excessiva. Isso representa uma perda econômica, tendo em vista os efeitos de uma alimentação errônea com metionina. Também apresenta danos quanto ao bem-estar animal, onde alguns indivíduos podem estar apresentando respostas tóxicas e alterações aterogênicas a ingestão de metionina (TROEN et al., 2003). Desse modo, é possível que animais alimentados de maneira individual e diária, com exigências estimadas especificamente para o indivíduo apresentem uma resposta melhor à ingestão de metionina, quando comparados aos animais que recebem uma dieta por fases.

A metionina tem uma série de detalhes a ser considerados na sua determinação de exigência nutricional, como a fonte, a relação com a lisina, o status sanitário do animal. Dessa maneira, objetiva-se através desta dissertação estudar as diferentes fontes de metionina e sua relação mínima de teste com a lisina através de meta-análise e adicionalmente apontar possíveis problemas experimentais na determinação da exigência deste aminoácido. Além disso, objetiva-se estudar e comparar através de simulação importantes modelos fatoriais para determinação de exigências nutricionais para suínos e observar as possíveis diferenças entre eles. Finalmente, comparar a resposta de suínos à ingestão de metionina em um sistema individual e diário e dentro de um sistema tradicional por fases. Esses podem ser os passos iniciais para desenvolver uma nova maneira de estimar as exigências nutricionais de metionina para suínos em crescimento e terminação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABPA. Estatísticas. Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína. Disponível em <HTTPS://http://www.abipecs.com.br>. Acesso em 14 out. 2014.

BERTECHINI, A. G. **Nutrição de monogástricos**. UFLA, 2006.

BUSHMAN, B. J. **Integrating results through meta-analytic review using SAS software**. SAS Institute, 1999.

CHUNG, T.; BAKER, D. Ideal amino acid pattern for 10-kilogram pigs. **Journal of Animal Science**, v. 70, n. 10, p. 3102-3111, 1992.

D'MELLO, J. F. **Amino acids in animal nutrition**. CABI, 2003.

FENG, Z.; QIAO, S.; MA, Y.; WANG, X.; LI, X.; THACKER, P. Efficacy of methionine hydroxy analog and DL-methionine as methionine sources for growing pigs. **J. Anim. Veter. Adv**, v. 5, p. 135-142, 2006.

FIALHO, E. T.; SILVA, H. O.; ZANGERONIMO, M. G.; AMARAL, N. D. O.; RODRIGUES, P. B.; CANTARELLI, V. D. S. **Alimentos alternativos para suínos**. Lavras/Brazil: UFLA/FAEPE, 232, 2009.

FULLER, M. F. **The encyclopedia of farm animal nutrition**. Cabi, 2004.

GAINES, A.; KENDALL, D.; FENT, R.; FRANK, J.; YI, G.; RATLIFF, R.; ALLEE, G.; KNIGHT, C. Estimation of the ideal ratio of sulfur amino acids: lysine in diets for nursery pigs weighing 11-22 kg. **J Anim Sci**, v. 81, n. Suppl 1, p. 139, 2003.

GAINES, A.; YI, G.; RATLIFF, B.; SRICHANA, P.; KENDALL, D.; ALLEE, G.; KNIGHT, C.; PERRYMAN, K. Estimation of the ideal ratio of true ileal digestible sulfur amino acids: lysine in 8-to 26-kg nursery pigs. **Journal of animal science**, v. 83, n. 11, p. 2527-2534, 2005.

HARDWICK, D. F.; APPELGARTH, D. A.; COCKCROFT, D. M.; ROSS, P. M.; CALDER, R. J. Pathogenesis of methionine-induced toxicity. **Metabolism**, v. 19, n. 5, p. 381-391, 1970.

HAUSCHILD, L.; LOVATTO, P. A.; POMAR, J.; POMAR, C. Development of sustainable precision farming systems for swine: Estimating real-time individual amino acid requirements in growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 7, p. 2255-2263, 2012.

HAUSCHILD, L.; POMAR, C.; LOVATTO, P. A. Systematic comparison of the empirical and factorial methods used to estimate the nutrient requirements of growing pigs. **animal**, v. 4, n. 05, p. 714-723, 2010.

JEAN DIT BAILLEUL, P.; RIVEST, J.; DUBEAU, F.; POMAR, C. Reducing nitrogen excretion in pigs by modifying the traditional least-cost formulation algorithm. **Livestock Production Science**, v. 72, n. 3, p. 199-211, 2001.

KLASING, K. C. Nutrition and the immune system. **British Poultry Science**, v. 48, n. 5, p. 525-537, 2007.

KNAP, P. Time trends of Gompertz growth parameters in 'meat-type' pigs. **Animal Science**, v. 70, n. 1, p. 39-49, 2000.

KNIGHT, C.; ATWELL, C.; WUELLING, C.; IVEY, F.; DIBNER, J. The relative effectiveness of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and DL-methionine in young swine. **Journal of animal science**, v. 76, n. 3, p. 781-787, 1998.

LOVATTO, P. A.; HAUSCHILD, L.; HAUPTLI, L.; LEHNEN, C. R.; CARVALHO, A. D. Á. Modelagem da ingestão, retenção e excreção de nitrogênio e fósforo pela suinocultura brasileira. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 2348-2354, 2005.

LOVATTO, P. A.; LEHNEN, C. R.; ANDRETTA, I.; CARVALHO, A. D.; HAUSCHILD, L. Meta-análise em pesquisas científicas: enfoque em metodologias. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 285-294, 2007.

MCCULLY, K. S. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. **The American journal of pathology**, v. 56, n. 1, p. 111, 1969.

MUDD, S. H.; LEVY, H. L.; ABELES, R. H. A derangement in B<sub>12</sub> metabolism leading to homocystinemia, cystathioninemia and methylmalonic aciduria. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 35, n. 1, p. 121-126, 1969.

NCR. **Nutrient requirements of swine**. National Academy of Sciences-National Research Council Washington, DC, 2012.

NELSON, D. L.; LEHNINGER, A. L.; COX, M. M. **Lehninger principles of biochemistry**. Macmillan, 2008.

OLIVEIRA NETO, A. R. **Nutrição de Não Ruminantes**. Jaboticabal/Brazil: Funep, 678, 2014.

PATIENCE, J. F. Precision in swine feeding programs: An integrated approach. **Animal Feed Science and Technology**, v. 59, n. 1–3, p. 137-145, 1996.

POMAR, C.; HAUSCHILD, L.; ZHANG, G.-H.; POMAR, J.; LOVATTO, P. A. Applying precision feeding techniques in growing-finishing pig operations. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, p. 226-237, 2009.

POMAR, C.; KYRIAZAKIS, I.; EMMANS, G. C.; KNAP, P. W. Modeling stochasticity: Dealing with populations rather than individual pigs. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 14 suppl 2, p. E178-E186, 2003.

QIAO, S.; PIAO, X.; FENG, Z.; DING, Y.; YUE, L.; THACKER, P. The Optimum Methionine to Methionine Plus Cystine Ratio for Growing Pigs Determined Using Plasma Urea Nitrogen and Nitrogen Balance. **Asian-australasian journal of animal sciences**, v. 21, n. 3, p. 434-442, 2008.

RAKSHANDEH, A.; HTOO, J. K.; KARROW, N.; MILLER, S. P.; DE LANGE, C. F. Impact of immune system stimulation on the ileal nutrient digestibility and utilisation of methionine plus cysteine intake for whole-body protein deposition in growing pigs. **British Journal of Nutrition**, v. 111, n. 01, p. 101-110, 2014.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Funep, 2007.

SAUVANT, D.; SCHMIDELY, P.; DAUDIN, J. J.; ST-PIERRE, N. R. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. **animal**, v. 2, n. 08, p. 1203-1214, 2008.

ST-PIERRE, N. R. Meta-analyses of experimental data in the animal sciences. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 343-358, 2007.

TOUE, S.; KODAMA, R.; AMAO, M.; KAWAMATA, Y.; KIMURA, T.; SAKAI, R. Screening of Toxicity Biomarkers for Methionine Excess in Rats. **The Journal of Nutrition**, v. 136, n. 6, p. 1716S-1721S, 2006.

TROEN, A. M.; LUTGENS, E.; SMITH, D. E.; ROSENBERG, I. H.; SELHUB, J. The atherogenic effect of excess methionine intake. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 25, p. 15089-15094, 2003.

VAZ, F.; WANDERS, R. Carnitine biosynthesis in mammals. **Biochem. J**, v. 361, p. 417-429, 2002.

WATHES, C.; KRISTENSEN, H. H.; AERTS, J.-M.; BERCKMANS, D. Is precision livestock farming an engineer's daydream or nightmare, an animal's friend or foe, and a farmer's panacea or pitfall? **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 64, n. 1, p. 2-10, 2008.

WELLOCK, I.; EMMANS, G.; KYRIAZAKIS, I. Describing and predicting potential growth in the pig. **Animal science: an international journal of fundamental and applied research**, 2004.

WHITTEMORE, C.; GREEN, D.; SCHOFIELD, C. Nutrition management of growing pigs. **BSAS OCCASIONAL PUBLICATION**, p. 89-96, 2001.

ZHANG, G.; POMAR, C.; POMAR, J.; CASTILLO, J. R. E. D. Precision feeding in growing-finishing pigs: estimating the dynamic requirements of lysine supporting maximal daily gain. v. 44, p. 171-176, 2012.



**CAPÍTULO 2 - ESTUDO EXPLORATÓRIO DO EFEITO DE UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES FONTES DE METIONINA E DA RELAÇÃO METIONINA:LISINA PARA SUÍNOS DA FASE INICIAL À TERMINAÇÃO**

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas da **Livestock Science**

**Estudo exploratório do efeito de utilização de diferentes fontes de metionina e da relação metionina:lisina para suínos da fase inicial à terminação**

Remus, A.<sup>1</sup>, Peres, F. M.<sup>1</sup>, Hauschild, L.<sup>1</sup>, Kipper, M.<sup>2</sup>, Andretta, I.<sup>1</sup>, Malheiros, E. B.<sup>1</sup>,

<sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal – FCAV. Animal Science departament. Cep14883-108.

<sup>2</sup> Program de doutorado em Produção Animal– Universidade Federal de Santa Maria

<sup>3</sup> Dairy and Swine Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Sherbrooke, QC, J1M 0C8, Canada

Palavras-chaves: meta-análise, aminoácidos, suínos, exigências, nutrição

## RESUMO

Esta meta-análise foi conduzida objetivando estudar a resposta de suínos alimentados com diferentes tipos de metionina, bem como quantificar a relação ideal de metionina: lisina para leitões da fase inicial a terminação. Os dados foram obtidos a partir de revistas indexadas, as informações foram extraídas da seção de material e métodos e resultados de artigos pré-selecionados. Inicialmente a base de dados foi composta por 41 artigos. Foram realizadas análises gráfica, de correlação, análise exploratória multivariada de fatores, análise de variância-covariância e para determinação das exigências nutricionais foram utilizados modelos não lineares. Para determinação da relação metionina: lisina, 83% dos artigos da base foram excluídos pois não atendiam a exigência de lisina. Para análise de fontes de metionina foram utilizados 21 artigos para fase inicial não havendo diferença ( $P < 0.05$ ) entre L-metionina, DL-metionina e metionina hidroxí-análoga. A relação ideal

metionina: lisina mínima para máximo desempenho de suínos em crescimentos e terminação foi 26%. Esta meta-análise permitiu revisar diversos estudos realizados com metionina desde 1964 e sugerir a padronização de pesquisa e descrição de experimentos de modo a permitir a comparação de dados. Mais que isso, permitiu estudar as diferentes fontes de metionina e a relação metionina: lisina para suínos da fase inicial à fase de terminação.

## 1. Introdução

A suplementação de dietas utilizando aminoácidos sintéticos é uma das práticas nutricionais que visam minimizar o impacto ambiental causado pela excreção de nitrogênio (N) no ambiente. Além disso, a adição de aminoácidos sintéticos na dieta potencializa os resultados de desempenho e qualidade de carcaça dos suínos (D'Mello, 2003). A metionina é um aminoácido essencial na dieta de todas as espécies e é o segundo aminoácido limitante na dieta de suínos. Porém, pode se tornar o primeiro aminoácido limitante em dietas de leitões alimentados com fontes proteicas ricas em lisina mas pobres em metionina (NCR, 2012).

A exigência de aminoácidos por não-ruminantes pode ser dependente da forma química desse nutriente. Os aminoácidos passíveis de utilização direta na síntese proteica se apresentam na forma L-aminoácido (Nelson et al., 2008). A maior parte dos aminoácidos que se apresentam na forma D-aminoácido podem ser convertidos para a forma L desde que haja nitrogênio disponível (D'Mello, 2003). Tendo por base esses conceitos bioquímicos surgiu a ideia de utilizar aminoácidos sintéticos na forma DL-aminoácido e a utilização de DL-aminoácidos hidróxi-análogos. Diversos estudos afirmam que a

metionina em suas diferentes formas químicas é passível de suplementação em base equivalente (Chung and Baker, 1992a); (Knight et al., 1998). Porém em estudo recente (Feng et al., 2006) isso é contraposto: a eficiência de um DL-aminoácido é de 99% quando comparado a um L-aminoácido, já um DL-aminoácido hidroxí-análogo apresenta uma eficiência de 88%.

A literatura (Kendall et al., 2002; Gaines et al., 2003; Gaines et al., 2005) sugere que a relação lisina:aminoácidos sulfurados proposta pelo NRC não atende as exigências para máximo desempenho para as novas linhagens genéticas. Devido ao modo como o componente mecanicista do modelo funciona, é necessário um maior embasamento com relação ao nível, tipo de metionina convencionalmente utilizados para a população suína com objetivo de máximo desempenho. Sendo de fundamental importância estudar a relação lisina:metionina.

As informações encontradas na literatura separadamente não representam base científica suficiente para definir se há diferença entre o desempenho de animais suplementados com diferentes tipos de metionina, sendo em alguns casos contraditórios e pouco conclusivos. No intuito de quantificar e resumir essas informações surgiu a ideia de realizar uma meta-análise. A meta-análise ajusta os dados à diversidade experimental potencializando o número amostral, possibilitando notar diferenças que não poderiam ser observadas em uma população menor. Portanto, esta meta-análise foi conduzida objetivando estudar a resposta de suínos alimentados com diferentes tipos de metionina, bem como quantificar a relação ideal de metionina: lisina para leitões da fase inicial a terminação.

## 2. Material e métodos

### *2.1. Sistematização das informações: Seleção dos artigos*

Os dados foram obtidos a partir de revistas indexadas, as informações foram extraídas da seção de material e métodos e resultados de artigos pré-selecionados. Após terem sido identificados, os estudos foram avaliados criticamente devido sua qualidade e relevância no que diz respeito aos objetivos da meta-análise. Nesta etapa, um conjunto de informações sobre cada estudo selecionado foi analisado, incluindo itens relacionados ao delineamento, tratamentos, variáveis estudadas e análise de dados. Depois disso, os artigos selecionados foram submetidos a uma lista de verificação, a fim de avaliar a sua inclusão ou não no estudo. Os principais critérios para a seleção de publicações foram: a) adição de diferentes níveis de metionina na dieta, b) todos os demais aminoácidos (AA) foram fixados em 100% do seu nível ideal (NRC, 2012); c) apresentação da composição nutricional dietas. Apenas os dados oriundos de estudos publicados em revistas indexadas foram selecionados, considerando a aceitação para publicação como um critério subjetivo para a sua qualidade metodológica. Além de estudos que avaliaram níveis de metionina o tipo também foi priorizado na seleção para obter uma base com as diferentes formas químicas: L-metionina, DL-metionina, DL-metionina hidroxí análoga e dieta basal. Os resultados (efeito positivo ou negativo), não foram tomados como critério de seleção para inclusão de artigos na base de dados.

### *2.2. Construção da base, codificação e filtragem dos dados*

Os dados foram tabulados em planilha eletrônica sendo cada linha um tratamento e cada coluna uma variável exploratória. As informações relativas

aos objetivos propostos (desempenho animal) e outras variáveis (linha genética, sexo, composição nutricional da dieta, índices de produção) foram tabulados, a fim de permitir uma análise descritiva dos estudos incluídos na base de dados. Uma codificação para tipo de metionina foi realizada na base de dados. Além desta codificação categórica, foram utilizadas outras três codificações moderadoras: a) codificação geral (efeito de estudo), onde cada artigo recebeu um número sequencial; b) codificação *inter*, onde cada tratamento recebeu um número composto por codificação geral mais outro número de forma sequencial (artigo 1, tratamento 01= 1+01 = 101); c) codificação *intra*, código semelhante ao *inter* utilizado quando haviam medidas repetidas (no tempo ou doses). Para a definição das variáveis dependentes e independentes foram utilizados os critérios descritos na literatura (Lovatto et al., 2007; Sauvant et al., 2008).

### 2.3. Descrição da base

#### *Relação metionina: lisina*

O banco de dados utilizado para a meta-análise para determinação da relação metionina: lisina foi composto por 7 artigos (abrangendo 13 estudos dose resposta, publicados desde 1981 a 2006 (mediana: 1995), somando um total de 1,232 suínos. A média para as variáveis nos estudos foram: peso inicial de 11 kg (5 a 32 kg), peso final 64 kg (6 a 105 kg), energia metabolizável da dieta de 2,848 kcal (2,733 a 3,370 kcal), proteína bruta de 19,56% (14,5 a 23,8%), lisina digestível calculada 1,18% (0,96 a 1,44%), metionina digestível calculada 0,37% (0,14 a 0,76%), treonina digestível 0,80% (0,52 a 1,04%) triptofano digestível 0,24 % (0,18 a 0,33%), cálcio 1,01 (0,71 a 1,20%), fósforo

total 0,75% (0,69 a 0,82%). A base englobou 141 linhas (tratamentos), e 183 colunas (variáveis).

#### *Análise qualitativa de metionina*

A base consistia em 21 artigos publicados entre 1965 e 2006 (mediana: 1992), totalizando 4.406 leitões. A idade média inicial foi de 36 dias (9 à 87 dias), o nível médio de metionina digestível foi 0,31% (0,10 a 0,71%), o nível médio de lisina digestível foi 1,19% (0,74% a 1,62%), de treonina digestível 0,78% (0,74 a 0,88%) e de triptofano digestível 0,22% (0,19 a 0,26%). Os dados de distribuição de animais por tratamentos são apresentados na figura 1. A base de dados englobou 266 linhas e 171 colunas.

#### 2.4. Análise gráfica e de correlação

A análise gráfica foi utilizada para observar a distribuição dos dados de modo a formar uma visão global sobre a coerência e heterogeneidade dos dados. Através dessa análise foram formadas hipóteses de correlação para definição do modelo estatístico (Lovatto et al., 2007). Nessa etapa foram verificadas as distribuições dos dados por ano (figura 2), país e tratamento. Foram estudadas as relações inter e intra-estudos. Foi procedida uma regressão do ganho médio diário em função do consumo diário de ração para verificar a coerência biológica dos dados. Os outliers que apresentaram coerência biológica não foram retirados das análises (Sauvant et al., 2008). Em seguida foi realizada análise de correlação, a qual permitiu observar a interação de algumas variáveis sobre os resultados. Foram posteriormente incluídas na análise de variância-covariância utilizando o ajuste por covariável.

#### 2.5. Análise de fatores

Primeiramente foram escolhidos 13 fatores para análise sendo eles: código geral, código inter, código intra, número de animais por tratamento, composição da dieta (percentual total de lisina, treonina, metionina+cistina, nível de metionina e tipo de metionina). Foram incluídos também variáveis de desempenho como: consumo médio diário de ração (CMDR), ganho médio diário de peso (GMDP), conversão alimentar (CA), eficiência alimentar (EA). Primeiramente os dados foram importados para o programa Statistica<sup>®</sup> e padronizados. A padronização é um procedimento básico para a maior parte das análises exploratórias multivariadas. A mesma é feita utilizando o recurso disponível pelo programa ao selecionar todos os dados. Em seguida os dados foram processados através do recurso “Multivariate Exploratory Techniques” e em sequência “Factor Analysis”. A extração dos fatores foi feita através de componentes principais. A análise por componentes foi utilizada com o objetivo de resumir a maior parte da variância contida nas variáveis iniciais a um número mínimo de fatores (Hair et al., 2009).

Na sequência, foram selecionados os autovalores através de análise gráfica, sendo aceitos apenas os que se encontravam acima de 1, segundo o critério de Kaiser. Para tanto o programa disponibilizou dois fatores não rotacionados. Um fator não rotacionado é a análise de fatores bruta, ou seja, sem aplicação de uma técnica de rotação de fatores. Contudo havia uma grande complexidade entre os dados e optou-se por utilizar o rotacionamento de fatores através do método “*Varimax normalizad*”. Rotacionou-se os dados para obter soluções mais simples e que melhor explicassem as variáveis. O método *Varimax* concentra-se na simplificação de colunas (no presente caso as variáveis), maximizando a soma das variâncias próximas a 1 e -1 e



próximas a zero (Hair et al., 2009). Isso facilitou a interpretação dos fatores onde cargas altas tem alta correlação e cargas baixas correlação praticamente nula.

## 2.6. Análise de variância-covariância

A análise de variância-covariância foi realizada pelo procedimento "*general linear model*" utilizando programa estatístico Minitab 16 (Minitab Inc., State College, USA). Todas as análises de variância-covariância foram realizadas considerando os tratamentos (tipos de metionina), a codificação geral, inter-estudos e intra-estudos. A análise de resíduos foi realizada graficamente sendo possível observar que os mesmos seguiam a distribuição normal com média zero e variância constante. Para testar a homocedasticidade dos erros foram utilizados os testes de Hartley, Cochran e Bartlett, onde aceitou-se  $H_0$  ( $P > 0,05$ ), ou seja, foi admitida homogeneidade nos resíduos testados para os tratamentos.

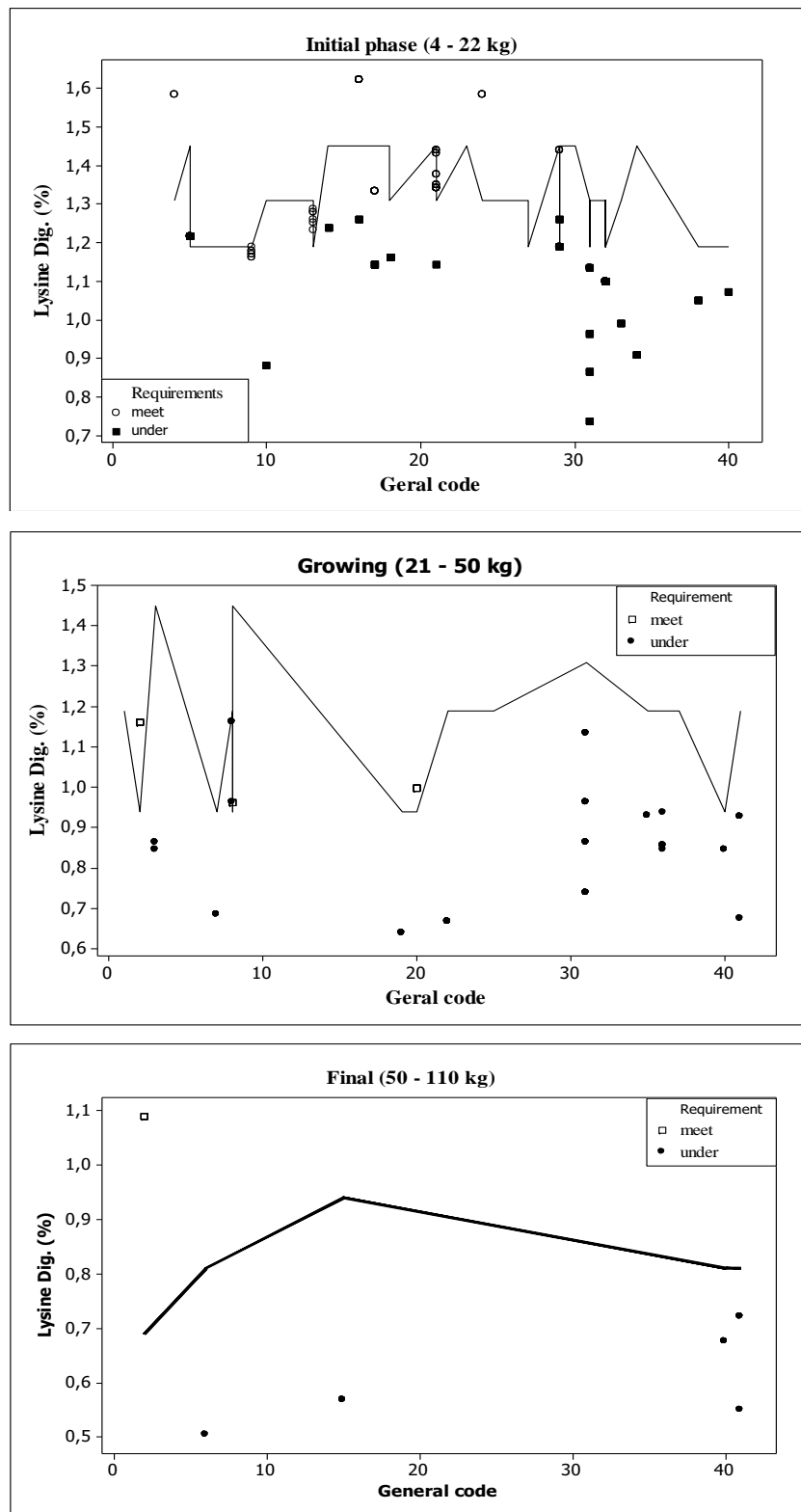
## 2.7. Análise por modelos não lineares

Cada estudo dose-resposta foi analisado através do procedimento NLIN do programa estatístico SAS. A variação residual, bem como as estimativas dos parâmetros L, R e U foram salvos e utilizados posteriormente para alimentação do modelo geral. O código geral, utilizado para controlar a variação de artigos, foi inserido como efeito fixo no modelo utilizando o procedimento NLMIXED do programa estatístico SAS.

### 3. Resultados

#### 3.1. Resultados de pesquisa

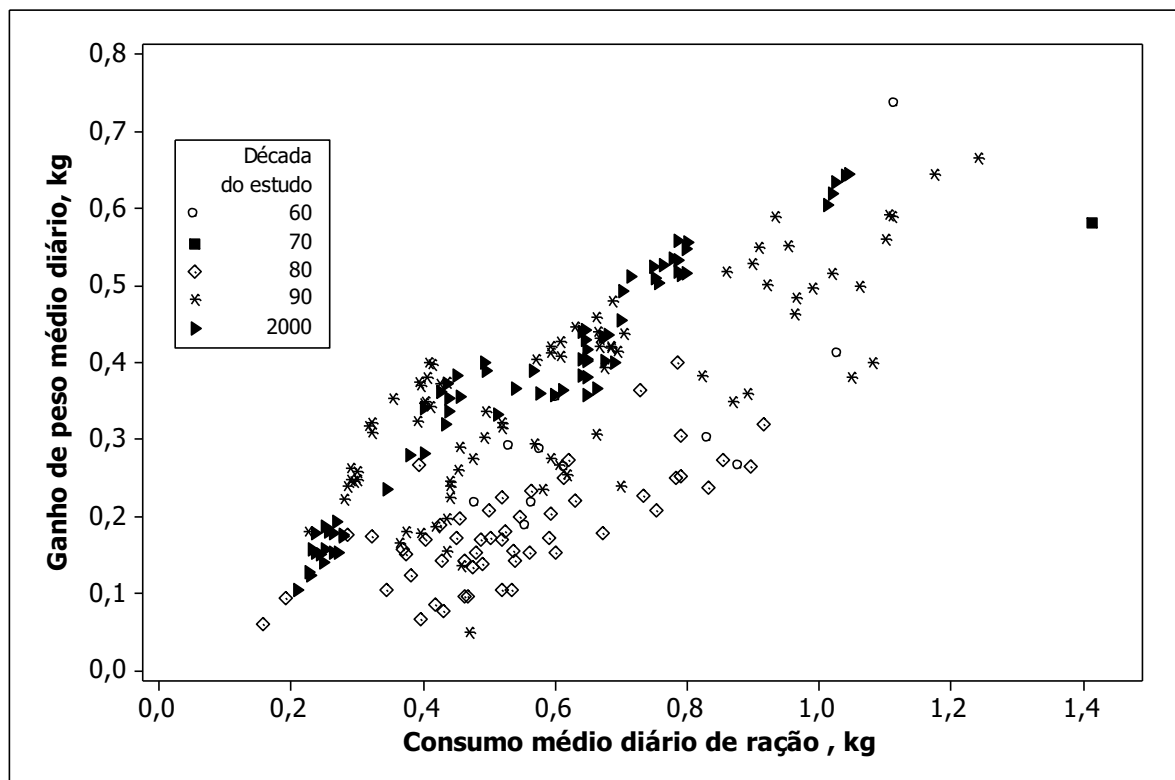
Inicialmente a base de dados foi composta por 41 artigos, após análise exploratória 34 estudos foram excluídos para a determinação da relação ideal metionina:lisina devido aos níveis de lisina, apresentados nos artigos, não atenderem as exigências determinadas pelo NRC (2012) para cada faixa de peso estudada (Figura 1). Para a análise qualitativa (tipo de metionina) 23 artigos foram avaliados e compreendeu somente animais em fase inicial de crescimento. Os dados para crescimento e terminação não foram englobados na análise qualitativa por não apresentarem homocedasticidade de dados e não terem distribuição normal. Os dados foram considerados desbalanceados, pela grande diferença no número de tratamentos e dessa forma os artigos não foram analisados para essas fases.



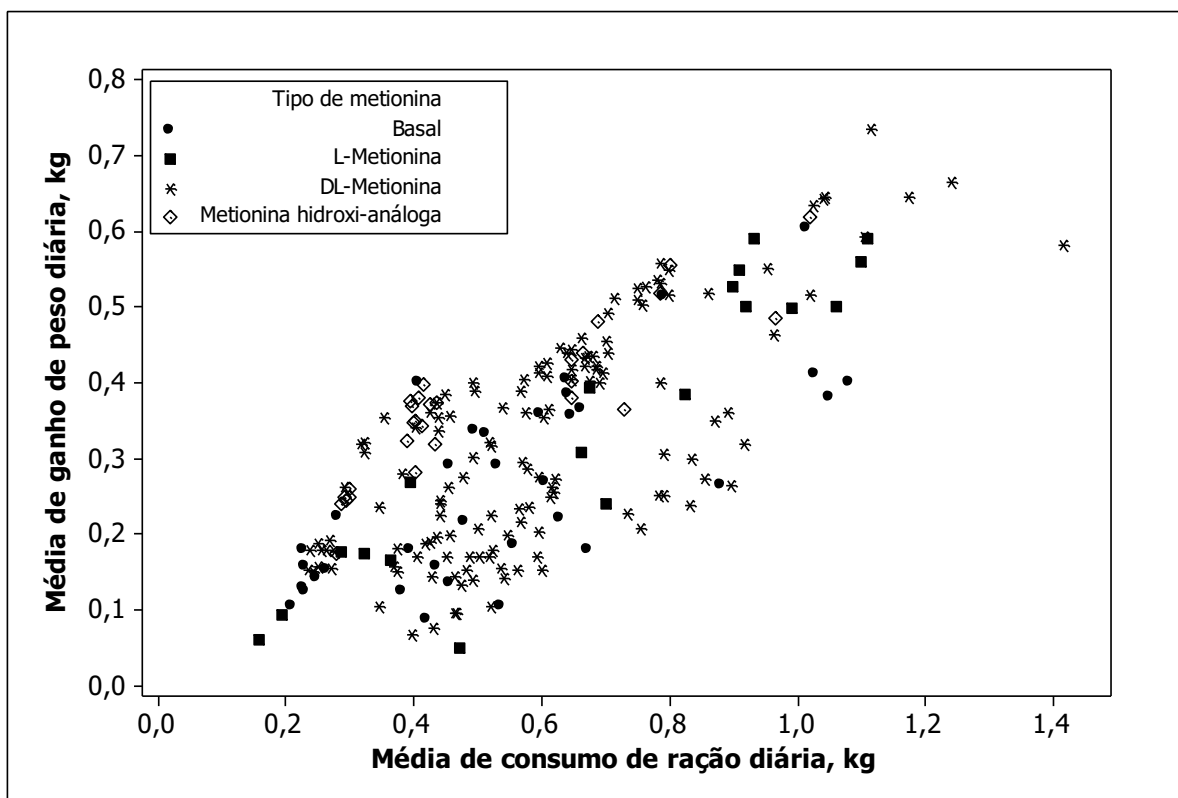
**Figura1.** Percentual de lisina digestível das dietas. A linha mostra a exigência (NRC, 2012) para cada faixa de peso e sexo calculado para cada experimento. Artigos abaixo da exigência foram excluídos da análise.

### 3.2. Análise gráfica e de correlação

Os dados foram analisados quanto sua coerência biológica para década em que o estudo foi publicado (Figura 2), mostrando a evolução da eficiência alimentar no decorrer das décadas estando estes dois fatores correlacionados positivamente ( $P < 0.001$ ). Um estudo gráfico para tipo de metionina (Figura 3), foi realizado mostrando coerência biológica na distribuição dos dados.



**Figura 2.** Distribuição de leitões por década que contemplou cada estudo. Dados brutos oriundos na análise gráfica, nenhum ajuste para peso metabólico ou consumo de metionina foram feitos na apresentação deste gráfico.



**Figura 3.** Distribuição de leitões dentro de cada tipo de metionina estudadas. Dados brutos oriundos na análise gráfica, nenhum ajuste para peso metabólico ou consumo de metionina foram feitos na apresentação deste gráfico.

### 3.3. Análise de fatores

Os fatores, após rotacionados (tabela 1) mostraram uma separação das variáveis, onde as que estavam associadas a dieta (com exceção de duas) ficaram retidas no primeiro fator. As exceções foram: nível de metionina e tipo de metionina, que ficaram retidas no segundo fator. As variáveis: código de artigo, código inter-estudos, código intra-estudos e número de animais por artigo apresentaram um valor alto de correlação em ambos os fatores, o que fez com que fossem excluídos desta análise. No primeiro fator (tabela 1), as variáveis: lisina (0,76), treonina (0,74), metionina+cistina (0,71) e eficiência alimentar (0,78), apresentaram alta correlação positiva, ou seja, a medida que

uma aumenta as demais também aumentam, enquanto CMDR e GMD apresentaram correlação negativa. É também possível afirmar, através desta análise, que se houver um aumento no nível dos aminoácidos, representados no primeiro fator, haverá uma diminuição no CMDR, GMDP, já que todas as variáveis de um fator possuem inter-relação.

**Tabela 1.** Fatores resultantes da análise exploratória de fatores rotacionados utilizando o método “Varimax Normalizad”.

	<b>Fator 1</b>	<b>Fator 2</b>
<b>Número de animais por artigo</b>	0,117	0,521
<b>Lisina</b>	0,768	0,341
<b>Treonina</b>	0,744	0,348
<b>Metionina</b>	0,459	<b>0,773</b>
<b>Metionina+Cistina</b>	0,715	0,572
<b>Consumo diário de ração</b>	-0,952	-0,212
<b>Ganho médio diário</b>	-0,926	-0,039
<b>Eficiência alimentar</b>	0,786	0,499
<b>Tipo de metionina</b>	-0,077	<b>0,855</b>
<b>Explicação da variância</b>	5,782	2,410
<b>Proporção total</b>	57,82%	24,09%

No segundo fator, as variáveis: nível de metionina (0,77) e tipo de metionina (0,85) apresentaram alta correlação positiva. O primeiro e o segundo fator retiveram respectivamente 57, 82% e 24,03% de toda a variância contida nas variáveis originais, conseguindo reter no total 81,91% de toda variância. O

autovalor do primeiro fator foi de 5.78 e do segundo fator 2.40 de uma escala de 10 pontos.

### 3.4. Resultados para análise de variância-covariância

A análise para tipo de metionina suplementada para leitões na fase inicial de crescimento é apresentada na tabela 2. O consumo médio diário de ração foi maior para L-metionina ( $P < 0,05$ ) quando comparado a dieta basal, mas não diferiu entre os demais tratamentos ( $P > 0,05$ ). O ganho médio diário de peso foi maior para leitões que foram suplementados com alguma fonte de metionina sintética ( $P < 0,05$ ). O mesmo resultado foi apresentado para eficiência alimentar e para a quantidade de metionina ingerida (MI).

**Tabela 2.** Análise de variância-covariância para variáveis de desempenho de leitões em fase inicial de crescimento ajustadas por covariável para peso metabólico elevado na potência 0,6.

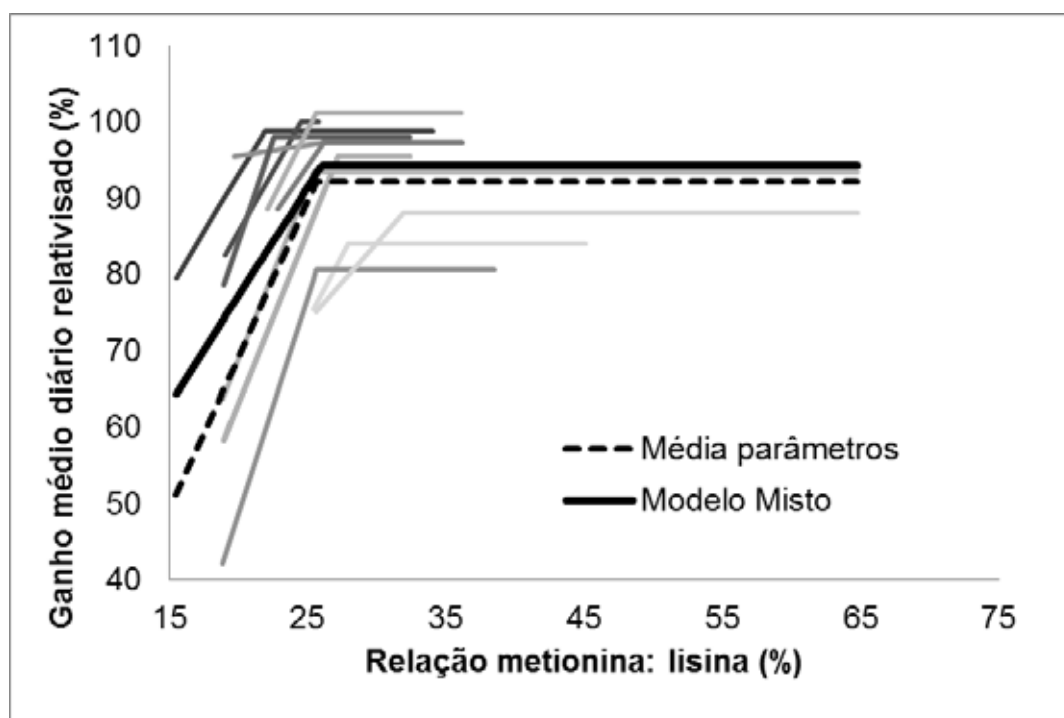
	Basal	L- metionina	DL- metionina	Metionina -Hidroxi- Análoga	MSE	P valor*
<b>CMDR,</b> <b>kg/day</b>	0,569 <sup>a</sup>	0,699 <sup>b</sup>	0,597 <sup>ab</sup>	0,608 <sup>ab</sup>	0,09	≤0,05
<b>GMDP,</b> <b>kg/day</b>	0,288 <sup>a</sup>	0,422 <sup>b</sup>	0,336 <sup>b</sup>	0,352 <sup>b</sup>	0,07	≤0,01
<b>EA</b>	0,484 <sup>a</sup>	0,607 <sup>b</sup>	0,541 <sup>b</sup>	0,548 <sup>b</sup>	0,09	≤0,05
<b>MI, g/day</b>	1,093 <sup>a</sup>	2,277 <sup>b</sup>	1,923 <sup>b</sup>	1,725 <sup>b</sup>	0,59	≤0,01

PC<sup>0,6</sup>=4,34kg \*LSMEANS: para tipo de metionina  $Pr > |t|$  para H0:

LSMean(i)=LSMean(j).

### 3.5. Determinação da relação ideal metionina: lisina

Para determinação da relação metionina: lisina foram estudados 7 artigos, abrangendo 13 estudos dose resposta, através de um modelo de efeito fixo apenas com efeito aleatório residual. Os dados foram relativizados em função do maior ganho de peso dentro de cada platô, sendo todos os ganhos apresentados em percentual relativo (Figura 4). Os parâmetros iniciais utilizados no modelo linear-platô foram  $U = -0,022$ ,  $R = 29,26$  e  $L = 92$  (DPE = 4). Os parâmetros finais estimados para o modelo linear-platô foram  $U = -2,85$ ,  $R = 26$  e  $L = 94,23$  (DPE = 162,29).



**Figura 4.** Ganho médio diário relativizado segundo o ganho de peso máximo encontrado no estudo em função da relação metionina: lisina digestível estimada na dieta.



## 4. Discussão

### 4.1. *Padronização de pesquisa*

Dos artigos que compunham inicialmente a base, 83% tiveram de ser excluídos por não atenderem as exigências nutricionais para fase de peso e sexo (NCR, 2012). O uso da última versão desse modelo foi adotado uma vez que se objetivava comparar os resultados atualmente, para populações de alto desempenho. O atendimento da lisina é imprescindível para a determinação dos demais aminoácidos para suínos, uma vez que ela é o primeiro aminoácido a limitar a síntese proteica nas dietas normalmente utilizadas para suínos. Para um resultado acurado, tendo por base a atual teoria de proteína ideal, não se pode determinar a exigência de metionina pelo nível de inclusão ou ingestão de metionina e sim por sua relação com a lisina, uma vez assumida sua dependência. Desse modo é necessário que os artigos que estudam exigências nutricionais apresentem a composição nutricional completa das dietas ofertadas. Isso permite a padronização de resultados, possibilitando comparar estudos realizados com diferentes genéticas e em diferentes ambientes. Também se faz necessário nos artigos publicados, uma melhora na descrição ambiental quanto a espaçamento, piso, temperatura, sistema de climatização, e principalmente as condições sanitárias em que os animais foram estudados. A exigência de metionina está diretamente correlacionada com o sistema imune (Rakhshandeh et al., 2014), desse modo sugere-se determinar sua exigência nutricional em condições sem desafio sanitário.

Tratando especialmente do caso de metionina, é necessário que os artigos apresentem as relações utilizadas entre metionina: cisteína, uma vez que a cisteína pode suprir até 50% da exigência de manutenção para

aminoácidos sulfurados (Chung and Baker, 1992a). O aumento de cisteína na dieta, não interfere no desempenho desde que metionina tenha sido atendida, contudo, em casos onde ambas são limitantes um aumento significativo no nível de cisteína não irá aumentar o desempenho, mas provavelmente irá evitar a perda de peso atendendo a manutenção (Qiao et al., 2008). Além disso, as fontes dos aminoácidos, especialmente de metionina devem estar claramente descritas e a pureza e biodisponibilidade deve ser apresentada, uma vez que para comparação de fontes é necessário que as mesmas estejam em base equivalente (Chung and Baker, 1992b; Knight et al., 1998).

Quanto ao resumo de dados, exploração e determinação de exigência nutricional através de meta-análise devem ser feitas de maneira ética e ponderada. Uma base de dados consistente, com o aumento de observações e balanceamento de dados, quanto ao ano e número de animais por tratamento pode apresentar resultados diferentes de uma base de dados sem a correta seleção, codificação e padronização de dados. Porém, para que seja possível esta análise profunda e correta através de meta-análise, é necessário que os estudos sejam realizados de forma passível à comparação e as revistas científicas padronizem as normas para aceitação de artigos, especialmente ao que diz respeito à apresentação do material e métodos utilizados.

#### *4.2. Utilização da análise gráfica*

Um dos vieses da meta-análise é que muitas vezes apenas resultados positivos são tomados como base (Lovatto et al., 2007), pois a maioria das vezes os resultados negativos não são publicados. É importante considerar que resultados negativos, também são importantes e desde que a pesquisa tenha sido bem estruturada, devem ser levados em consideração. Gráficos simples

representando X em função de Y podem mostrar o comportamento dos dados e a presença de *outliers*, como podemos observar na figura 2. Os dados apresentaram coerência biológica, apesar dos pontos dispersos apresentados para dados da década de 90. Essa dispersão se deve ao fato de que diferentes grupos genéticos e sexos foram apresentados no mesmo gráfico, onde a diferença na eficiência alimentar muda em função desses fatores, o que resulta em uma fonte de variação nos dados. Ainda no que diz respeito aos vieses, a análise gráfica ajuda nessa interpretação. Observando a distribuição de dados podemos supor a tendência de conter apenas dados positivos, como pode ser observado na figura 3, quanto aos tipos de metionina. Os dados são uniformemente distribuídos entre os tipos, o que, previamente, não suporta assumir uma hipótese de diferentes resultados de desempenho em função do tipo de metionina suplementada. A análise gráfica foi fundamental para definição das hipóteses e para eleger as variáveis a serem incluídas no modelo de análise de variância-covariância bem como os efeitos a serem considerados no modelo não linear.

#### *4.3. Análise de fatores*

No primeiro fator foi possível observar que conforme o aumento do nível de aminoácidos menor o desempenho dos leitões. É importante ressaltar que os dados utilizados para a base de dados foram oriundos de experimentos dose-resposta onde todos os aminoácidos, com exceção de metionina (que não ficou retida nesse fator), encontravam-se no nível ideal, o que explica o resultado. Alguns aminoácidos quando em excesso podem apresentar efeito tóxico, como no caso de triptofano (D'Mello, 2003), além disso, a suplementação em excesso de aminoácidos resulta em um aumento da

demanda energética para metabolização e excreção desses nutrientes e seus resíduos pelo organismo (Nelson et al., 2008). Pode-se afirmar que o primeiro fator apresenta a melhor combinação linear de variáveis (no sentido de explicar a maior parte da variância) e o segundo fator explica boa parte da variância restante. Esse mostrou correlação entre o tipo de metionina e o nível de metionina da dieta, isso pode ser explicado pelos diferentes níveis de inclusão para obter-se base equivalente dentro de cada tipo de metionina.

#### *4.4. Desempenho de leitões suplementados com diferentes fontes de metionina*

Provavelmente o aumento no consumo de ração está correlacionado com o aumento no ganho de peso, dessa maneira animais suplementados apresentaram um melhor desempenho que é refletido na eficiência alimentar. O consumo de metionina foi calculado em função do nível do aminoácido na dieta e o consumo de ração, logo leitões suplementados receberam níveis maiores de metionina e bem como tiveram um melhor desempenho o que levou a aumentar o consumo de ração e logo o consumo de metionina. Esse resultado suporta estudos prévios (Chung and Baker, 1992b; Knight et al., 1998) que afirmam que em base equivalente o tipo de metionina não interfere no desempenho. Apesar disso, novas pesquisas na área estudando a relação ideal com a metionina em função da fonte se mostram um campo promissor.

#### *4.5. Relação metionina: lisina*

O ponto de quebra do modelo linear-platô pode ser interpretado como a exigência mínima ou relação mínima entre aminoácidos para proporcionar o máximo desempenho de uma população (Pomar et al., 2014). Nesse caso o valor encontrado foi de 26% de inclusão de metionina em função da lisina para

um desempenho de 94% do máximo desempenho alcançado. A média sugerida para essa fase de idade é de 29% (NCR, 2012) e 30% (Rostagno et al., 2005) para 100% de desempenho. Os modelos comumente utilizados para estimar as exigências nutricionais de aminoácidos são os modelos broken-line (Robbins et al., 2006).

Esses modelos vêm sendo discutidos, onde o linear-platô é apontado como um modelo geralmente preferido para estudos com o aumento gradual de nutrientes limitantes (Hauschild et al., 2010) e para determinação de exigência nutricional de um indivíduo (Pomar et al., 2003). Quando estimada a relação de nutrientes através desse modelo, uma diminuição de 4 a 5% pode impactar negativamente no desempenho, já o curvo-linear platô oferece uma maior margem de segurança (Barea et al., 2009) e descreve melhor a resposta da população (Pomar et al., 2003); Pomar et al., 2014). As exigências nutricionais de uma população são geralmente determinadas tendo por base o indivíduo médio, ou seja, 50% da população recebe menos do que necessita para máximo desempenho. O modelo linear-platô pode representar a exigência nutricional de desse indivíduo, contudo o curvo-linear irá resultar em um resultado mais acurado para população (Simongiovanni et al., 2012). Especialmente pois o indivíduo médio não representa as exigências nutricionais de uma população (Hauschild et al., 2010), sendo recomendado um aumento em 30% em sua exigência para permitir máximo desempenho desta (Brossard et al., 2009).

Uma opção para determinação de exigências seria interpolar o linear e o curvo-linear platô de modo a estabelecer uma “faixa de trabalho”. Onde o ponto de quebra do linear-platô é o mínimo a ser utilizado enquanto o ponto de

estabilização o curvo-linear é o máximo de inclusão. Desse modo, este trabalho estabelece o mínimo de relação metionina: lisina a ser trabalhada. Um aspecto que limitou o uso do modelo curvo-linear nesse estudo é ausência de informações nos estudos no que se refere variabilidade das respostas nos diferentes tratamentos. É importante ressaltar que a o modelo utilizado para estimar esses valores é de efeito fixo, sendo válido o resultado apenas para a população estudada.

## 5. Conclusão

Desde que suplementados em base equivalente, L-metionina, DL-metionina e metionina hidroxí-analoga não diferem entre si no desempenho de leitões na fase inicial. A relação mínima de metionina: lisina é de 26% de inclusão de metionina em função da exigência de lisina, uma relação menor que essa poderá representar perdas significativas no desempenho. Adicionalmente, através deste trabalho, foi possível sugerir a padronização de dados para publicação, bem como, apontar as principais falhas metodológicas encontradas nas publicações estudadas.

## 6. Agradecimentos

A Fundação de Amparo a Pesquisa de São Paulo (FAPESP), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas de estudo concedidas.

## 7. Referências bibliográficas

- Barea, R., Brossard, L., Le Floc'h, N., Primot, Y., Melchior, D., van Milgen, J., 2009. The standardized ileal digestible valine-to-lysine requirement ratio is at least seventy percent in postweaned piglets. *Journal of Animal Science* 87, 935-947.
- Brossard, L., Dourmad, J.-Y., Rivest, J., Van Milgen, J., 2009. Modelling the variation in performance of a population of growing pig as affected by lysine supply and feeding strategy. *Animal* 3, 1114-1123.
- Chung, T., Baker, D., 1992a. Ideal amino acid pattern for 10-kilogram pigs. *Journal of Animal Science* 70, 3102-3111.
- Chung, T.K., Baker, D.H., 1992b. Utilization of methionine isomers and analogs by the pig. *Canadian Journal of Animal Science* 72, 185-188.
- D'Mello, J.F., 2003. *Amino acids in animal nutrition*. CABI.
- Feng, Z., Qiao, S., Ma, Y., Wang, X., Li, X., Thacker, P., 2006. Efficacy of methionine hydroxy analog and DL-methionine as methionine sources for growing pigs. *J. Anim. Veter. Adv* 5, 135-142.
- Gaines, A., Kendall, D., Fent, R., Frank, J., Yi, G., Ratliff, R., Allee, G., Knight, C., 2003. Estimation of the ideal ratio of sulfur amino acids: lysine in diets for nursery pigs weighing 11-22 kg. *J Anim Sci* 81, 139.
- Gaines, A., Yi, G., Ratliff, B., Srichana, P., Kendall, D., Allee, G., Knight, C., Perryman, K., 2005. Estimation of the ideal ratio of true ileal digestible sulfur amino acids: lysine in 8-to 26-kg nursery pigs. *Journal of animal science* 83, 2527-2534.
- Hair, J.F., Black, W.C., Babin, B.J., Anderson, R.E., Tatham, R.L., 2009. *Análise multivariada de dados*. Bookman.

Hauschild, L., Pomar, C., Lovatto, P.A., 2010. Systematic comparison of the empirical and factorial methods used to estimate the nutrient requirements of growing pigs. *animal* 4, 714-723.

Kendall, D., Allee, G., Usry, J., Ward, M., Cook, D., 2002. Evaluation of the lysine requirement for 11 to 20 kg pigs. *Journal of Animal Science*.

Knight, C., Atwell, C., Wuelling, C., Ivey, F., Dibner, J., 1998. The relative effectiveness of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and DL-methionine in young swine. *Journal of animal science* 76, 781-787.

Lovatto, P.A., Lehen, C.R., Andretta, I., Carvalho, A.D., Hauschild, L., 2007. Meta-análise em pesquisas científicas: enfoque em metodologias. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36, 285-294.

NCR, 2012. Nutrient requirements of swine. National Academy of Sciences-National Research Council Washington, DC.

Nelson, D.L., Lehninger, A.L., Cox, M.M., 2008. *Lehninger principles of biochemistry*. Macmillan.

Pomar, C., Kyriazakis, I., Emmans, G.C., Knap, P.W., 2003. Modeling stochasticity: Dealing with populations rather than individual pigs. *Journal of Animal Science* 81, E178-E186.

Qiao, S., Piao, X., Feng, Z., Ding, Y., Yue, L., Thacker, P., 2008. The Optimum Methionine to Methionine Plus Cystine Ratio for Growing Pigs Determined Using Plasma Urea Nitrogen and Nitrogen Balance. *Asian-australasian journal of animal sciences* 21, 434-442.

Rakhshandeh, A., Htoo, J.K., Karrow, N., Miller, S.P., de Lange, C.F., 2014. Impact of immune system stimulation on the ileal nutrient digestibility and



utilisation of methionine plus cysteine intake for whole-body protein deposition in growing pigs. *British Journal of Nutrition* 111, 101-110.

Robbins, K., Saxton, A., Southern, L., 2006. Estimation of nutrient requirements using broken-line regression analysis. *Journal of Animal Science* 84, E155-E165.

Rostagno, H.S., Albino, L.F.T., Donzele, J.L., Gomes, P.C., Oliveira, R.d., Lopes, D.C., Ferreira, A.S., Barreto, S., Euclides, R.F., 2005. Composição de alimentos e exigências nutricionais. *Tabelas brasileiras para aves e suínos 2*.

Sauvant, D., Schmidely, P., Daudin, J.J., St-Pierre, N.R., 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *animal* 2, 1203-1214.

Simongiovanni, A., Corrent, E., Le Floc'h, N., van Milgen, J., 2012. Estimation of the tryptophan requirement in piglets by meta-analysis. *animal* 6, 594-602.

**CAPÍTULO 3 - GROWING PIGS' SIMULATED AMINO ACID  
REQUIREMENTS DIFFERS BETWEEN ACTUAL FACTORIAL METHODS**

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas do **Journal of Animal Science**

## Growing pigs' simulated amino acid requirements differs between actual factorial methods

Remus A.<sup>1</sup>, Pomar C.<sup>2</sup>, Hauschild L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Animal Science Department, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Brazil;

<sup>2</sup> Dairy and Swine Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Sherbrooke, QC, J1M 0C8, Canada

Key-Words: feeding program, modelling, individual, population, Lysine

**Abstract:** The aim of this study was to compare actual factorial methods used to estimate phase-feeding growing pigs' lysine requirements with the method developed for precision feeding (AIPF) which provides individual pigs with daily tailored diets. Data from 36 high-performance pigs (25 kg initial BW, MSE= 2.23) were used in a 28-d trial. Observed individual daily net energy (NE) intake and BW gain were smoothed by linear regression and used to estimate individual and population standardized ileal digestible lysine (SIDLys) requirements. BW gain was assumed constant (regression slope) for every pig within the trial. The AIPF individual SIDLys requirements were calculated daily assuming 16% protein in daily gain, 7% lysine in protein and 72% SIDLys retention efficiency plus the maintenance (Hauschild et al., 2012). Phase-feeding SIDLys population requirements were estimated with the Brazilian (BT, Rostagno et al., 2011), NRC (2012) and AIPF factorial methods. These requirements were estimated as recommended using the average pig in the middle of the phase in BT and NRC methods and the 80 centile pig of the population at the beginning of the phase in the AIPF method. Between-animal variation in SIDLys requirements varied from 22% at the beginning to 8% at the end of the trial. Daily population BT and NRC SIDLys requirements were respectively 15 and 13% higher than the average daily AIPF model requirements. When using these models to estimate the optimal population SIDLys concentration to be served in the studied 28-days feeding phase, BT and NRC methods (i.e., average pig in the middle of the phase) yielded similar recommendations (3.48 and 3.44 SIDLys g/Kcal NE, respectively), but were, in average, 22% lower than the estimated by the AIPF method (i.e., 80 centile pig at the beginning of the phase). In the first day, 64, 69 and 25% of pigs were underfed with the BT, NRC, and AIPF methods, respectively, for a total period, in the same order, of 16, 18, and 2% of the

1008 pig-day estimations. The BT and NRC methods were calibrated for maximum population responses this explaining why they overestimate the daily average animal requirements by more than 13%, and yield a value close to the 80 centile pig of the population. The average pig in the middle of the feeding phase has to be used with caution to estimate requirements of this phase given the large variation in nutrient requirements that exist between and across pigs over time.

**Keywords: lysine, NRC, precision nutrition, swine**

## INTRODUCTION

Usually the amino acids requirements are determined by the empirical method that estimates the requirements of a population for a short time. This implies in a summarization of empirical studies, using ratios on fat and lean deposition that are time dependent, and are affected by the health status and environmental conditions (NCR, 2012). These are some reasons whereby the factorial methods became more popular. This method estimates a specific pig in a determined point in the time aiming to maximize performance of a population based on the requirements to maintenance and growth (Pomar et al., 2003). But the application of the factorial method demands special attention in the choice of the pig once that it should be the best representation of the population (Hauschild et al., 2010).

When applied the conventional feeding system (phase-feeding) supported on the current system for determination of nutritional requirements (factorial method), it is possible that individuals from the same herd have different responses to feed (Pomar et al., 2014). The variability results from differences among animals in respect to genetics, age and weight. Besides this variation intrinsic to the animal there is also the extrinsic variation. This could be related to external factors influencing animal performance and nutrient demands. However, real-time models developed for precision feeding systems (AIPF, Automatic and Intelligent Precision Feeding) considers this variability inter and intra-animal, providing to each pig of the herd a diet tailored daily according to its own pattern of feed intake and growth (Pomar et al., 2014; Hauschild et al., 2012). The objective of this study was to evaluate two factorial methods with the AIPF method proposed to the swine industry to estimate amino acid requirements in growing pigs. This is the first step in the development of a new method to estimate methionine requirements.

## MATERIAL AND METHODS

### *Data collection and standardization*

Were used data of daily feed intake and growth performance (BW) from 36 pigs of a high-performance genotype (Camborough x AGPIC337, Agroceres PIC Inc., Brotas, Sao Paulo, Brazil) with initial BW of 25 kg (MSE= 2.23) that were used in a 28-d experiment. This data were used in a linear function to estimate daily individual and population standardized ileal digestible lysine (**SIDLys**) requirements based on actual daily NE intake and growth rates. The NE assumed was 2,475 kcal/kg (NRC, 2012).

### *Individual animal and population characterization*

Individual over time variation of NE intake and BW were smoothed by linear regression. Body weight gain (BWG) was assumed constant for every pig within the growth interval, it had been the intercept of equation of feed intake in function of BW. To the average pig the data from all population was analysed and used the average for each variable how the input of model.

### *Estimating daily amino acid requirement*

Using NE intake, BW and BWG from individual or population it was estimate daily or phase amino acid requirements based on three different approach: AIPF model, the Brazilian requirements tables to poultry and pigs (Rostagno et al., 2011) (BT) and the USA (NRC, 2012). The AIPF model estimate requirements for the individual and the formers for one individual pig (average) from the population.

**AIPF model (individual pigs):** the mechanistic component of the AIPF model based on individual animal characterization (NE intake, BW and BWG) estimated with

a factorial method the optimal concentration of Lys that should be offered that day to each pig in the herd to meet requirements. The mechanistic model component, daily Lys requirements (g/d) were calculated by adding the maintenance and growth requirements. Maintenance daily Lys requirements were estimated by adding basal endogenous losses ( $0.313 \text{ g Lys/kg DM} \times \text{DFI}$ ), losses related to desquamation in the digestive tract ( $0.0045 \text{ g Lys/kg}^{0.75} \cdot \text{d} \times \text{BW}^{0.75}$ ), and losses related to basal renewal of body proteins ( $0.0239 \text{ g Lys/kg}^{0.75} \cdot \text{d} \times \text{BW}^{0.75}$ ; van Milgen et al., 2008). The SID Lys requirements for growth were calculated assuming that 7% of the body protein is Lys (Mahan and Shields, 1998) and that the efficiency of Lys retention from dietary digestible Lys is 72% (Möhn et al., 2000). Weight gain composition in terms of protein was calculated assuming 16% protein in daily gain (De Lange et al., 2003).

**BT (average pig):** Based on population animal characterization (average response of NE intake, BW and BWG), daily population SIDLys requirements in BT was estimated using the follow factorial equation,

$$\text{SID lysine requirement (g/day)} = 0.036 \times \text{BW}^{0.75} + Y \times \text{ADG}.$$

$$\text{Where Lys Dig.(g)/ADG (kg) is } Y = 16.142 + 0.0951 \times (\text{BW}) - 0.0005 \times (\text{BW})^2 .$$

**NRC model (average pig):** Based on population animal characterization (average response of NE intake, BW and BWG), daily population SIDLys requirements in NRC was estimated by adding requirements for maintenance (basal + integument losses) and requirements for growth (Protein deposition, Pd). Accordingly, maintenance (SIDLysM) is calculated as follow:

$$\text{Basal endogenous GIT lysine losses (g/day)} = \text{Feed intake (FI)} \times (0.417/1,000) \times 0.88 \times 1.1 \text{ (equation 1),}$$

Integument lysine losses (g/day) =  $0.0045 \times BW^{0.75}$  (equation 2),

SIDLysM (g/day) = (equation 1 + 2) / (0.75 + 0.002 × (maximum Pd - 147.7)),

The SID lysine for growth (SIDLysG) is calculated as follow:

Lysine retained in the Pd (g/day): Non-Ractopamine-induced Pd × 7.10 / 100,

SIDLysG (g/day) = {Lysine retained in Pd / [0.75 + 0.002 × (maximum Pd - 147.7)]} × (1 + 0.0547 + 0.002215 × BW),

Finally the total SID lysine requirements (g/day) = SIDLysM + SIDLysG.

Methionine requirements were assumed to be 30% of those of SIDLys for BT and AIPF models and 29% for NRC model. Lastly, the ideal lysine concentration were calculated for the all the models by dividing the SID lysine requirements by the NE intake.

### ***Estimating phase population amino acid requirements***

Phase-phase population requirements were estimated using the 80 centile pig requirement (ideal lysine concentration estimated) of the population (Hauschild et al., 2010) with the AIPF or the average pig in the middle of the phase for BT and NRC (Rostagno et al., 2011; NRC, 2012) models. The 80 centile pig were determinate based on all pigs daily requirements, the input was the day one lysine requirement of each pig and the output was the 80 percent obtained from the “Empirical CDF graph” from Minitab 16 (Minitab Inc., State College, USA) using the option “distribution = normal”. The 80 centile was considered the equal, or in this case, the first pig at day one with the lysine requirement slightly above the estimated 80 percent.

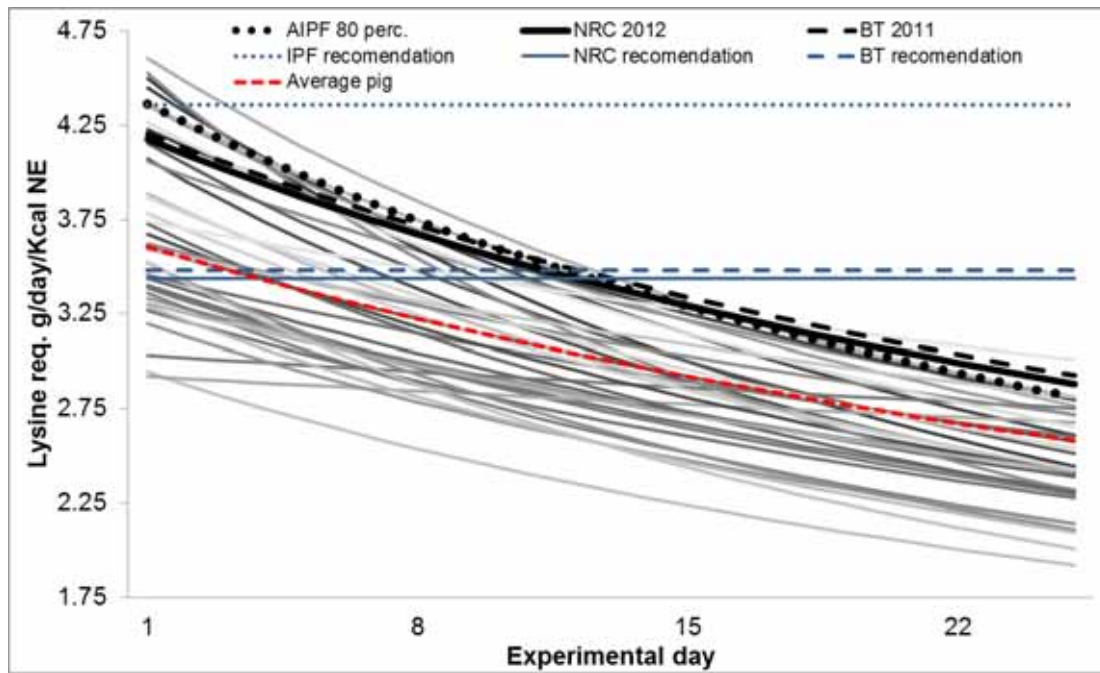


## RESULTS AND DISCUSSION

### *The requirements estimation: population x individual*

The 3 studied models were used according to recommendations to estimate daily nutrient requirements and the optimal level of dietary nutrients to be provided in the 28-days feeding phase (Figure 1). NRC and BT models estimate the requirements of the average pig of the population while the AIPF model estimates each individual pig nutrient requirements. Between animal variation in SIDLys requirements varied from 22% at the beginning to 8% at the end of the experimental period. Daily population SIDLys requirements estimated with the NRC and BT models were respectively 13 and 15% higher than the daily average requirements of the individual pigs calculated with the AIPF model. Probably the main difference is due the AIPF model considers the variability inter e intra-animal. This variability results from differences among animals with respect to genetics, age and weight. Besides this variation intrinsic to the animal there is also the extrinsic variation. This variation refers to the external factors that influence animal performance well as nutritional requirements. Each animal responds differently to such effects which can increase the variability between animals (Wellock et al., 2004). The factorial method, used in NRC and BT, usually is compose by the sum of maintenance and production (growth) requirements. This means that the efficiency of nutrients utilization used in the metabolic functions is taken in account in these models (van Milgen and Noblet, 2003). For a given growing period, requirements are assumed to be the amount of the given limiting nutrient that will allow the animal to perform its needed functions in a normal manner and thus, without limiting growth (Pomar et al., 2014). However, the variability between animals is not assumed in these models. Considering that maximal population response is obtained by feeding the entire population at the levels required by the most demanding pigs (Hauschild et al., 2010), it

seems that the NRC and BT models have been calibrated for maximal ADG population response and therefore, they do not estimate average individual requirements, this even if they use average population values to estimate population requirements.



**Figure 1.** Daily standardized ileal digestible lysine (SIDLys) requirements (g/kcal net energy, NE) of 25-50 kg body weight pigs and optimal phase-feeding SIDLys concentration estimated with the NRC (4), BT (3), and AIPF (1,2) models.

***The models recommendations: the lysine content/Kcal of net energy***

When using these models to estimate the optimal SIDLys concentration to be served in the studied 28-days feeding phase, NRC and BT models (i.e., average pig in the middle of the phase) yielded similar recommendations (Table 1), but were, in average, 22% lower than the estimated by the AIPF model (i.e., 80 centile pig at the beginning of the phase). In the first day, 69, 64 and 25% of pigs were underfed with the NRC, BT and AIPF models, respectively, for a total, in the same order, of 18, 16 and 2% of the 1008 pig-day estimations made during the growing period. The others amino acids requirements were estimated based on the ideal protein profile, especially methionine. However to IPF model used the methionine: lysine ratio recommended by BT that is 30% while the NRC recommendation is 29%. BT presented the same comportment than for lysine underestimating half time and overestimating in the final part. In other way, the NRC underestimate methionine requirements all the time compared with the 80 percentile pig. Observing the averages was possible found a difference of 5% less methionine by NRC than AIPF model and BT. When compared the 80 percentile pig at day 1 (1.30 g meth/Kcal Ne) using the AIPF requirements against the NRC (0.98 g meth/Kcal Ne) and BT (1.04 g meth/Kcal Ne), these recommended 28% and 25% less methionine than AIPF model. Some studies had described that probably the NRC ratio recommendation to sulphur amino acids not allows maximum growth to pigs (Gaines, 2003; Gaines, 2005). It could be given by the low sulphur amino acids level to meet the population requirements.

**Table 1.** Comparison between AIPF model (Automatic and Intelligent Precision Feeder), BT (Brazilian Tables Requirements to Swine and Poultry, 2011) and NRC (Nutrient Requirements of Swine, 2012) to pigs requirements between 25-50 kg of body weight.

	<b>AIPF</b>	<b>BT</b>	<b>NRC</b>
<b>Recomendation, Lys g/Kcal NE*</b>	4.22	3.48	3.44
<b>Recommendation, Met g/Kcal NE</b>	1.30	0.98	1.04
<b>Lys intake per day, g/Kcal NE</b>	7.85	6.48	6.40
<b>Population underfeed day 1, %</b>	25	64	69
<b>Population underfeed total phase, %</b>	2	16	18

\*The NE assumed was 2,475 kcal/kg (NRC, 2012), the comparisons are between the AIPF model using the 80 centil and BT and NRC using the average in the middle of phase.

The AIPF recommendations are close to those of the literature suggesting that maximal population responses in phase feeding systems are obtained by feeding the group 30% over the average requirements at the beginning of the phase (Quiniou et al., 2013). When the factorial method is used to estimate the nutrient requirements of a population of animals, it is common practice to use the average pig to represent the population. However, this practice should be adopted with caution once that half of a population will be overfed while the other half will be underfed (Brossard et al., 2009; Hauschild et al., 2010) what could result in losses of performance by the population. More than that, the factorial method just estimates a specific animal in a specific point, what means that the changes during the phase not will be taken in consideration in these models. In this way, if the aim is maximize population performance the best option should be adopted the requirements at the beginning of each feeding phase because is when maximum requirements normally appear (Brossard et al., 2009). Compensatory growth is seldom observed for protein growth and underfed pigs exhibit reduced performance. In previews studies were demonstrated that the compensatory growth in short period just occurs to water deposition and gut recover (Lovatto et al., 2006), and refeeding pigs during the finishing phase, that were restrict in the growth phase change the body composition increasing fat and decreasing the protein deposition in terms of total body composition (Heyer and Lebret, 2007). While the overfed pigs grow normally, this explaining why maximal population response is obtained in phase-feeding systems when most of the pigs are overfed most of the time (Pomar et al., 2014; Hauschild et al., 2010; Quiniou et al., 2013).

## IMPLICATIONS

The NRC and BT models were calibrated to estimate the requirements to maximum population response thus, overestimating average animal requirements by more than 13%. Furthermore, using the average pig in the middle of the feeding phase to estimate requirements has to be made with caution given the large variation in nutrient requirements that exist between pigs of the same population.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors express their gratitude to Fundação de Amparo a Pesquisa de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for the grants conceded.

## REFERENCES

- Brossard, L., J.-Y. Dourmad, J. Rivest, and J. van Milgen. 2009. Modelling the variation in performance of a population of growing pig as affected by lysine supply and feeding strategy. *Animal* 3: 1114–1123.
- De Lange, C., P. Morel, and S. Birkett. 2003. Modeling chemical and physical body composition of the growing pig. *Journal of Animal Science* 81: E159-E165.
- Gaines, A. et al. 2003. Estimation of the ideal ratio of sulfur amino acids: lysine in diets for nursery pigs weighing 11-22 kg. *J Anim Sci* 81: 139.

- Gaines, A. et al. 2005. Estimation of the ideal ratio of true ileal digestible sulfur amino acids: lysine in 8-to 26-kg nursery pigs. *Journal of animal science* 83: 2527-2534.
- Hauschild, L., P. A. Lovatto, J. Pomar, and C. Pomar. 2012. Development of sustainable precision farming systems for swine: estimating real-time individual amino acid requirements in growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 90: 2255–2263.
- Hauschild, L., C. Pomar, and P. A. Lovatto. 2010. Systematic comparison of the empirical and factorial methods used to estimate the nutrient requirements of growing pigs. *Animal* 4: 714–723.
- Heyer, A., and B. Lebret. 2007. Compensatory growth response in pigs: Effects on growth performance, composition of weight gain at carcass and muscle levels, and meat quality. *Journal of Animal Science* 85: 769-778.
- Lovatto, P. A., D. Sauvant, J. Noblet, S. Dubois, and J. van Milgen. 2006. Effects of feed restriction and subsequent refeeding on energy utilization in growing pigs. *Journal of Animal Science* 84: 3329-3336.
- Möhn, S., A. M. Gillis, P. J. Moughan, and C. F. de Lange. 2000. Influence of dietary lysine and energy intakes on body protein deposition and lysine utilization in the growing pig. *J. Anim. Sci.* 78: 1510–1519.
- NRC. 2012. *Nutrient requirements of swine*. 11th ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Pomar, C., I. Kyriazakis, G. C. Emmans, and P. W. Knap. 2003. Modeling stochasticity: Dealing with populations rather than individual pigs. *J. Anim. Sci.* 81: E178–E186.
- Pomar, C., J. Pomar, J. Rivest, L. Cloutier, M.-P. Letourneau-Montminy, I. Andretta, and L. Hauschild. 2014b. Estimating real-time individual amino acid requirements in growing-finishing pigs: Towards a new definition of nutrient requirements in growing-finishing pigs? In: N. K. Sakomura, R. M. Gous, I. Kyriazakis, and L.

- Hauschild, editors, Nutritional modelling in pigs and poultry. CABI, Wallingford, Oxon, England (*in press*).
- Rostagno, H. S. **et al.** 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 186 p.v.
- Hauschild, L.; Pomar, C.; Lovatto, P. A. 2010. Systematic comparison of the empirical and factorial methods used to estimate the nutrient requirements of growing pigs. *animal*, v.4, p.714-723.
- van Milgen, J. and Noblet, J. 2003. Partitioning of energy intake to heat, protein, and fat in growing pigs. *Journal of Animal Science* 81 (E. Suppl. 2), E86-E93.
- van Milgen, J.; Valancogne, a.; Dubois, s. et al. 2008. InraPorc: A model and decision support tool for the nutrition of growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, v.143, p.387-405.
- Quiniou, N., **et al.** 2013. Modélisation de l'effet des stratégies alimentaires et du contexte de prix des matières premières sur les performances moyennes, leur variabilité et les rejets azotés à l'échelle d'une population de porcs. *Journée Recherche Porcine* 45: 155-160.
- Wathes, C. M.; Kristensen, H. H.; Aerts, J. M. et al. Is precision livestock farming an engineer's daydream or nightmare, an animal's friend or foe, and a farmer's panacea or pitfall? *Computers and Electronics in Agriculture*, v. In Press, Corrected Proof, 2008.
- Wellock, I.J., Emmans, G.C. and Kyriazakis, I. 2004. Modeling the effects of stressors on the performance of populations of pigs. *Journal of Animal Science* 82, 2442-2450.

**CAPÍTULO 4 – RESPONSE TO METHIONINE INTAKE OF GROWING PIGS  
FED INDIVIDUALLY AND DAILY DIFFERS FROM THAT GROWING PIGS  
INSIDE TRADITIONAL PHASE FED PROGRAM**

Este capítulo é apresentado de acordo com as normas do **Journal of Animal Science**



**Response to methionine intake of growing pigs fed individually and daily differs from that growing pigs inside traditional phase fed program**

Remus A.<sup>1</sup>, Pomar C.<sup>2</sup>, Hauschild L.<sup>1</sup>, Perondi, D.<sup>1</sup>, Isola R. D. G.<sup>1</sup>, Gobi J. P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Animal Science Department, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Brazil;

<sup>2</sup> Dairy and Swine Research Centre, Agriculture and Agri-Food Canada, Sherbrooke, QC, J1M 0C8, Canada

**Abstract:** The aim of this study was to evaluate the methionine toxicity existence in traditional phase-feeding system where the pigs are fed in group and in precision feed systems in which pig are fed individually with daily tailored diets. We used data from 40 pigs of the same high-performance genotype with initial body weight of 25 kg (MSE= 2.23) and final body weight of 46 kg (MSE= 4.99). The treatments were arranged in a 2x3 factorial randomized design with 2 main factors: (1) two feeding programs (individual daily program (IDP) or a conventional 1 phase program (1PP), and (2) three methionine levels (70%, 100% or 130% of ideal level). The feed intake (ADFI) was measured daily, the pigs were weighted and blood sampled weekly. The nitrogen plasma urea (NPU) was collected, at jugular vena, one hour after the pigs receive the same amount of feed. The time between the first and last pig did not exceed a half hour. The longissimus dorsi depth was measured at last thoracic vertebra at 6 cm of midline using a transducer. The ADFI had no difference between programs or levels ( $P>0.05$ ). The ADG was higher at 1PP ( $P<0.05$ ) but had no difference between levels ( $P>0.05$ ). In

same way, the feed efficiency had been equal inside 1PP but had no difference to the IDP 130% ( $P>0.05$ ). This results are correlated with the amino acids intake, where the lysine intake was different inside the IDP and between the programs, had been 27% higher at 1PP than at IDP 130% ( $P<0.05$ ). The sulphur amino acids intake was 18% higher and NPU was 39% higher at 1PP ( $P<0.05$ ). However the 1PP not presented any response to methionine level. When the methionine:lysine ratio was 39% (IDP 130%) the G:F was the same of the 1PP program using 26% less lysine, 6% less methionine and 20% less cystine than phase program. The loin deph at longissimus dorsi had no differences between programs or levels ( $P<0.05$ ). These performance results suggest that the methionine levels have been underestimating to individuals, signaling for a possible difference in optimum methionine: lysine to individuals.

**Key-words:** precision feeding, amino acids, requirements, individual, population, Lysine

## INTRODUCTION

The feed cost represents around 70% of the swine production cost. Because that, many countries, commonly have been used linear programs of formulation to minimum cost. The problem is that this program does not consider the environmental excretion of nutrients (Jean dit Bailleul et al., 2001). To maximize production efficiency excreting fewer polluting waste Pomar et al., (2009) proposed the application of an individual and daily feeding system for pigs using the "Automatic and Intelligent Precision Feeder" (AIPF). This system considers the inter and intra-animal variability, and the diet is provided according to individual requirement and on a daily basis. It is not taken in account in the traditional phase program, which uses an average pig to estimate the population requirements and provide the same diet for an entire phase.

The protein deposition is one of the principal factors that influence the amino acids requirements, once that influences the feed efficiency, lean tissue growth, and carcass quality (NRC, 2012). Nowadays, the Aminoacids requirements are estimated in function of lysine requirement that is the first amino acids limiting in pigs diets. Methionine is the second and can become the first limiting amino acid in diets for weanling pigs fed protein sources rich in lysine but low in methionine (NCR, 1998). However, some studies (Gaines et al., 2003; Gaines et al., 2005) suggest that lysine:sulfur amino acids ratio proposed by NRC (1998) does not meet the requirements for maximum performance for new genetic lineages. In other way, the methionine is presented as a potentially toxic amino acid (Toue et al., 2006), and the increase or decrease it's ratio with lysine could result in worst pig performance.

When applied the feeding system supported on the current conventional system for determination of nutritional requirements, it is possible that individuals from the

same herd have different responses to feed (Pomar et al., 2013). The variability of individuals have to be considered when it is estimate the amino acids requirements inasmuch as the pigs have different feed efficiency. The effect of different methionine intakes and pig's individual tolerance to this amino acid in precision feeder systems is unknown. Likewise, the aim of this study was to evaluate the methionine toxicity existence in traditional phase-feeding system were the pigs are fed in group and in precision feed systems in wich pig are fed individually with daily tailored diets.

## **MATERIALS AND METHODS**

The present study is in accordance with Ethical Principles of Animal Experimentation, adopted by the Brazilian College of Experimentation (COBEA) and was approved by Ethical and Animal Welfare Commission (CEBEA), of Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP-Jaboticabal), Jaboticabal, SP, Brazil (Case No. 016870/13).

### ***Animals, Housing and Management***

Sixty barrow pigs of the same high-performance genotype (Camborough x AGPIC337, Agrocere PIC Inc., Brotas, Sao Paulo, Brazil) with a good health status, were shipped to swine laboratory at Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) of Sao Paulo State University (FCAV-UNESP).

The pigs were housed individually in pens with concrete floors, equipped with individual feeders and drinkers. During the adaptation period it were fed with a feed for initial pigs phase. Feed and water were provided *ad libitum* throughout the adaptation (21 days) and experimental period (28 days), although the feed intakes were stimulated, refreshing the feed and encouraging the pigs raising, five times a day (0800h, 1100h,

1400h, 1600h and 1800h). The remaining quantity of feed were collected manually every day starting 0600h, it weighed and discarded. The temperature meet the recommendations (Sobestiansky et al., 1998) and the pens were clean daily.

The pigs were arranged in a randomized design, 10 replicates per treatment (pig as the experimental unit). The treatments were arranged in a 2x3 factorial randomized design with 2 main factors: (1) two feeding programs (individual daily program (IDP) or a conventional 1 phase program (1PP), and (2) three methionine levels (70%, 100% or 130% of ideal level). The experimental period started when the pigs have reached the average of 25 kg (MSE= 2.23) and finished when the pigs had 46 kg (MSE= 4.99).

#### ***Programs, nutritional requirements and diets***

Two programs (IDP and 1PP) had the nutritional requirements to amino acids, calcium and phosphorus independently formulated, been isoenergetic diets. In the IDP, 3 feeds A and 3 feeds B were used (70%, 100%, and 130% methionine levels) while in the 1PP, 3 feeds were used containing the same amino acids composition with exception methionine. The feeds A and B were formulated to meet the requirements of most demanding pig in the first day and the least demanding pig in the last day of the experimental period, respectively, with reference to the lysine requirement. The 1PP the feed was formulated to meet the requirement of the average pig in the first day of experimental period.

The lysine requirements were calculated and amino acids requirements were estimated in function of the ratio follow the protein ideal profile. To simulate the pigs lysine requirement to formulate the feed, data from high performance pigs (same farm used in this experiment) were used from trials performed at FCAV-UNESP. Formulation was performed in accordance to the analyzed values of total AA content by

correcting to ileal digestibility value of each ingredient (Rostagno et al., 2011). The diets compositions were formulated to contain the same amino acids profile, what resulted in a small feedstock variation (Table 1). The methionine levels in the feeds had the inclusion calculated in function of ideal ratio with lysine level (30% in function of lysine level). In this way, the methionine established levels were 70%, 100%, and 130% of the recommended level, the ratios had been, respectively: 21%, 30% and 39% of methionine inclusion in function of lysine level. The cysteine:methionine ratio in the IDP feeds was respectively: 71%, 65%, and 48%; and in 1PP: 79%, 61%, and 45%. The level of threonine, tryptophan, valine, and especially lysine had no alteration between the diets keeping the recommended levels.

In the 1PP, the lysine (Lys) requirements were estimated with the factorial method according with the Brazilian requirements tables to poultry and pigs (Rostagno et al., 2011). That is described as lysine requirement  $\text{g/day} = 0.036 \times \text{BW}^{0.75} + Y \times \text{ADG}$ . Where  $\text{Lys Dig. (g)/ADG (kg)}$  is  $Y = 16.142 + 0.0951 \times (\text{BW}) - 0.0005 \times (\text{BW})^2$ . The BW and ADG were based in a high performance pig population. In this program, the pigs received the same feed during all 28 days of experiment.

In the IDP, the required daily concentration of Lys was estimated with a mathematical model using individual daily feed intake and weekly BW information (Hauschild et al., 2012). Using these data, the empirical component of the model estimated the expected BW, feed intake, and weight gain for the next day, whereas the mechanistic component used these three estimated variables to calculate with a factorial method the optimal concentration of Lys that should be offered that day to each pig in the herd to meet requirements. In this mechanistic model compartment, daily Lys requirements (g/d) were calculated by adding the maintenance and growth requirements. Maintenance daily Lys requirements were estimated by adding basal endogenous losses

(0.313 g Lys/kg dry matter  $\times$  daily feed intake), losses related to desquamation in the digestive tract ( $0.0045 \text{ g Lys/kg}^{0.75} \text{ d} \times \text{BW}^{0.75}$ ), and losses related to basal renewal of body proteins ( $0.0239 \text{ g Lys/kg}^{0.75} \text{ d} \times \text{BW}^{0.75}$ ; van Milgen et al., 2008). The SID Lys requirements for growth were calculated assuming that 7% of the body protein is Lys (Mahan and Shields, 1998) and that the efficiency of Lys retention from dietary digestible Lys is 72% (Möhn et al., 2000). Weight gain composition in terms of protein was calculated assuming 16% protein in daily gain (de Lange et al., 2003). This method of estimating nutrient requirements had been described previously (Hauschild et al., 2012; Pomar et al., 2014b) and calibrated in 2 previous studies (Zhang et al., 2012; Cloutier et al., 2014 unpublished data). In this program (Pomar et al., 2009) each pig received individually a feed that provided him exactly the nutrient level that it need at the day. To obtain the concentration of lysine, both feeds were mixed manually in different proportion every day.





### ***Experimental measurements***

The feed intake were measured daily, the BW weekly and the nitrogen plasma urea at the first and last day of experiment. The performance was evaluated 1-28 days of experiment through ADFI (kg), ADG (kg), G:F, lysine intake (g), methionine intake (g) and nitrogen plasma urea (mg/dl). The carcass parameters were evaluated through loin depth and backfat thickness using ultrasound (Aloka SD-500, Aloka Co. Ltd, Wallingford, Oxfordshire, England). The measurements were made in the last thoracic rib at 6 cm of midline using a transducer (3.5 Mhz, Aloka Co. Ltd, Wallingford, Oxfordshire, England). The blood variables alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), creatinine (CK), triglycerides, plasmatic total protein (PTP) and protein C-reactive (CRP) were used to evaluate the toxicity, health and nutritional status.

### ***Blood sampling***

The blood samples to AST, ALT, CK, triglycerides, PTP and CRP were collected weekly. For this the pigs were in fasting during eight hours (Toue et al., 2006). The samples were collected in the jugular vena and accommodated a tube with anticoagulant (EDTA). The average sampling time was one minute, although the pigs were fasting according the samplings order had been the time sample no more than 30 minutes the fasting difference between the first and last pig sampled. The urea blood sampling was done after the this first blood sampling. The pigs were fed and one hour after consumed the feed they were sampled in a cava cranial vena following the same time sample criteria adopted in the first sampling. The samples were accommodated in a tube with anticoagulant (sodium heparin). In both samples the time between final sample and centrifugation did not exceeded one hour and for this time the samples were

kept on ice. The blood samples were centrifuged during 20 minutes for 3,000 RPM at 4 °C. The plasma of each sample was divided in two eppendorfs to perform the analysis safely in duplicate. The plasma samples were stored at -20°C.

### ***Chemical analysis***

The AA ingredient composition was determined by liquid chromatography (White et al., 1986). The energy analysis was performed by bomb calorimeter (Ika C 2000 basic Calorimeter System, Wilmington, Carolina do Norte, USA) and crude protein was determined by LECO FP-528 (Leco Corporation. St. Joseph City, Michigan, USA). All plasma analysis were performed using an automatic spectrophotometer biochemistry analyzer (Labmax Plenno, Labtest Diagnóstico SA. Lagoa Santa, Minas Gerais, Brazil), using kits for each specific test (Labtest, Labtest Diagnóstico SA. Lagoa Santa, Minas Gerais, Brazil).

### ***Calculations and statistical analysis***

Individual pig was the experimental unit. Performance and carcass data were analyzed as a 2×3 factorial arrangement using GLM procedure of SAS (2012). The main effects included feeding program, methionine level, and their interaction. The hypothesis of normal distribution of variables was assumed using Cramer-von Mises test through Univariate procedure of SAS version 9.2 (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). Variability in the data was expressed as the stander error means (SEM), and a P<0.05 was considered to be statistically significant.

## RESULTS AND DISCUSSION

### *Growth performance, nutritional parameters and carcass parameters*

The ADFI had no differences between the systems or levels ( $P>0.05$ ) (Table 2). Methionine usually doesn't have influence on the feed intake since meet the requirements to maintenance and not exceed  $10 \text{ g}^{-1}$  (D'Mello, 2003). The ADG and G:F were different between the programs ( $P<0.05$ ). However, the pigs in IDP had increasing the performance in same way that increased the methionine level in the diet ( $P<0.05$ ). In other hand, this not happened in the 1PP ( $P>0.05$ ), this may be due the amino acids contents where all the time over the pigs requirements in this treatment. It is possible to observe that by the interaction that presented response linear and quadratic ( $P<0.05$ ). The performance difference between the programs is not expected (Andretta et al., 2014; Pomar et al., 2014). In this way, was performed a study to understand the difference between the AIPF and BT models, and to better understanding the NRC model (2012) was also considered. The BT recommendations used were to the average pig at day 1. However, it was observed that the BT and NRC are not able to estimate the average pig, these models estimate one of the higher performance pig of the heard and have the same recommendation that the AIPF model for a phase group population at day 1 (Remus et al., 2014; unpublished data). Because that, most part of a population was overfed, what explain the no response to methionine increase in the phase program. In other way, this happened in the IDP system model, and more than that, the increase in 30% of methionine requirements improved the performance of pigs in relation with the other treatments within IDP system. This performance results suggest that the methionine levels have been underestimate to individuals, signaling for a possible difference in optimum methionine: lysine to individuals.

**Table 2.** Effect of three methionine levels inside of two different feeders programs on performance and carcass of growing pigs (25-50kg).

	Means						P value			
	Individual dayle program(IDP)			Phase program (PP)			SEM	Pg <sup>a</sup>	L	Pg×L
	70%	100%	130%	70%	100%	130%				
<b>Methionine level*</b>										
ADFI, kg/day	1.758	1.724	1.957	1.925	1.795	1.890	0.276 <sup>bc</sup>	0.43	0.62	0.12 0.12
ADG, kg/day	0.609	0.686	0.815	0.868	0.793	0.833	0.147 <sup>b</sup>	P<0.01	P<0.01	P<0.01 P<0.01
G:F kg/kg	0.340	0.395	0.419	0.436	0.442	0.443	0.04 <sup>b</sup>	P<0.01	P<0.01	P<0.01 P<0.01
Lysine intake, g/day	13.511	12.381	15.373	21.697	20.216	21.257	2.966 <sup>e</sup>	P<0.01	P<0.01	P<0.01 P<0.01
Methionine intake, g/day	2.661	3.714	5.995	4.557	6.065	8.543	0.855 <sup>bce</sup>	P<0.01	P<0.01	P<0.01 P<0.01
Cystine intake, g/day	1.907	2.433	2.85	3.582	3.667	3.853	0.557 <sup>b</sup>	P<0.01	P<0.01	P<0.01 P<0.01
<b>Carcass parameters</b>										
Backfat tichness, cm	4.76	4.46	4.72	4.87	4.20	4.89	0.76	0.99	0.57	0.99 0.95
Loin Deph, <i>longissimus dorsi</i> , cm	25.07	27.55	30.74	29.49	30.45	29.94	3.31 <sup>b</sup>	P<0.01	P<0.01	P<0.01 P<0.01

<sup>a</sup>Pg=program, L=methionine level and Pg×L= interaction between program and methionine level.

<sup>b</sup>Linear response in IDP to methionine level (P<0.05). <sup>c</sup>Quadratic response in IPP to methionine level (P<0.05). <sup>d</sup>Quadratic tendence in IPP to methionine level (P=0.08). <sup>e</sup>Quadratic tendence in IDP to methionine level (P≤0.08).

The lysine, methionine and cystine intake presented interaction between programs and levels ( $P < 0.05$ ). The lysine was different within the programs and presented a tendency to quadratic response within IDP ( $P \leq 0.07$ ). The methionine intake was linear in both programs ( $P < 0.05$ ). The same happen with the cystine ( $P < 0.05$ ). This happen because the amount of feed A and B, in the IDP, change between the animals and treatments, what justify this difference. However, cystine is a nonessential amino acid when methionine is present in the diet at levels capable of meeting the demand for sulfur amino acids (SAA). Furthermore, methionine can go to transsulfuration pathway and became cystine while the opposing route cannot happen. Cystine is not likely to be able to provide remethylation of homocysteine to methionine substrate and is an irreversible way (Lewis, 2003). As methionine alone could meet the requirements of SSA, the importance of cystine occurs mainly by the composition of the diets of pigs in Brazil, are basically corn and soybean meal. Grains of corn are low in methionine, but have considerable concentrations of cystine, thinking in terms of the total composition of corn can represent up to 80 % of the diet and thus a large inclusion of cystine. The addition of this amino acid can represent a reduction in the requirement for methionine in order to cystine can supply up to 50% of the requirement of SSA (Chung and Baker, 1992). So it is important to consider the level of methionine+cystine diets, maintaining a relationship between them around 52% (NRC) and 54% (Quiáo et al., 2008). The methionine+cystine levels in the diets could influenced the ADG, in the same way increased the methionine requeriments. This happen because the ADG is an important component in the model, influencing the lysine concentration. So, in the same way that methionine allowed improve pig`s performance, the lysine requirement was increased for the higher ADG. However the 1PP not presented any response to methionine level. Curiously when was provide the same methionine:lysine (30%) recommended by NRC

(2012), the results were different between the programs. In the IDP the ratio allow attend a performance expected (Rostagno et al., 2011; NRC, 2012), but not was the best result. More than that, when the methionine:lysine ratio was 39% (IDP 130%) the G:F was the same of the 1PP program using 26% less lysine, 6% less methionine and 20% less cystine than phase program. Several studies (Pomar et al., 2010; Zhang et al., 2012; Andretta et al., 2014; Cloutier et al., 2014; Pomar et al., 2014) have established the economic and environmental advantages of using the daily multiphase programs. However, it is the first time that the methionine:lysine is studied in this two different programs and it appoint that the methionine level could influence the lysine requirements.

The program $\times$ level had interaction ( $P<0.05$ ) and presented linear and quadratic effect ( $P<0.05$ ) to nitrogen plasma urea (NPU). However, NUP was 54% lower in pigs in the IDP than those in the 1PP, presenting linear tendency ( $P=0.07$ ). In other way, the plasmatic total protein (PTP) was similar in all treatments ( $P>0.05$ ). Analysing the NPU and PTP, it is possible to infer that the even with decrease of nitrogen the amino acids availability, it did not affected in IDP. Because, usually, when occurs protein deficiency plasma total protein decrease (Kaneko et al., 1997). It is a normal response once that when amino acids concentration in tissue cell decrease, the plasma proteins enter in the cells to provide amino acids, because this system works in equilibrium (Reece and Swenson., 2004). It is showing that even in low amino acids intakes, like IDP 70%, the pigs in IDP improved his amino acids utilization at this point. Also the NUP is lower in the IDP pigs because the crude protein content of diet probably is lower once the higher concentration diet was mixed with the lower concentration diet. The plasmatic triglycerides had no differences between the treatments ( $P>0.05$ ), so it is possible to affirm that had no significant difference at energy content in the diets that could

influence in the results. Because the triglycerides in the blood is correlated with the energy level of the diet, once that the concentration of this metabolite in the blood is in part determined by intestinal absorption (Beitz, 2004). Concentrations below the methionine requirement for mammals can result in elevated levels of circulating lipids due to the lack of carnitine transporter is synthesized from lysine and methionine (Vaz and Wanders, 2002). This effect was not observed in this study. Analysing the nutritional plasmatic parameters, it is possible to affirm that the IDP allowed the pigs to improve his performance using less amino acids than IDP without nutrients deficiency. In other hand, the less methionine intake had influence in performance but not affected the nutritional plasmatic parameters. As a matter of fact, this result support the idea that the methionine:lysine ratio is not clear, in the same way of the methionine requirements to individuals.

In the carcass parameters (table 2) none variable presented interaction ( $P>0.05$ ). The backfat thickness was not influenced by the program ( $P>0.05$ ) or methionine level ( $P>0.05$ ). In other way, the loin depth at longissimus dorsi presented interaction linear ( $P<0.05$ ) and quadratic ( $P<0.05$ ) to program $\times$ level. The IDP program showed linear response to methionine level ( $P<0.05$ ) while within 1PP the methionine level had no response ( $P>0.05$ ). In situations where the amino acid input is not enough to support maximum growth, the animal reduces the growth rate and it changes the composition of growth, altering the amino acids composition especially in the longissimus dorsi (Conde-Aguilera et al., 2010). The difference is expected once that this muscle is presented as higher methionine content (Purchas et al., 2009). In other way, the lipid content is usually affected and became higher in situations of amino acids excess ((Conde-Aguilera et al., 2010)). Observing just backfat thickness, the methionine contents have not influence in growing pigs between 25-50 kg.

### *Plasmatic parameters*

The AST had not alteration in programs or levels ( $P>0.05$ ) (table 3). The ALT presented tendency to interaction ( $P=0.05$ ). The program $\times$ level had interaction ( $P<0.05$ ) and presented linear and quadratic effect ( $P<0.05$ ) to creatinine concentration. The methionine level had no influence in the parameters. Although, the interaction program $\times$ level in CK concentration points to alterations not expected in lower methionine levels. Normally the enzymatic alterations of these parameters are used to appoint hepatic cellular damage. But it is not necessary happens, unlike the difference in serum concentration (AST, ALT and CK) could appoint to a change in total amount of tissue. As a result, this enzymes concentration increases in proportion of the skeletal muscle mass (Kramer, 1989). But even with the alterations all biochemistry parameters are within the interval expected to growing pigs (Jackson and Cockcroft, 2007). This support the idea that had not cellular damage, but change in tissue amount. When the immune system is activated, it demands more methionine (Johnson et al., 2000) and the increase of this nutrient could improve the response of challenged pigs ((Rakhshandeh et al., 2014)). To confirm that the pigs had no alteration in health status, it was verified the protein C-reactive concentration, that presented not alteration between programs or methionine levels ( $P>0.05$ ).



**Table 3.** Effect of three methionine levels inside of two different feeder programs on serum biochemical to evaluate nutritional status, methionine toxicity and health status of growing pigs (25-50kg).

	Means				Means				P value				
	Individual dayle program(IDP)				Phase program (PP)				SEM	Pg <sup>a</sup>	L	Pg×L	
	70%	100%	130%		70%	100%	130%						Lin
<b>Methionina levels</b>													
Nitrogen Plasma urea, mg/dl	7.950	11.400	11.100		17.222	21.300	25.750	3.693 <sup>bc</sup>	P<0.01	P<0.01	P<0.01	P<0.01	
Plasmatic total protein, g/dl	6.345	6.522	6.067		6.060	6.200	6.328	0.705	0.83	0.32	0.83	0.83	
Plasmatic triglycerides, mg/dl	43.277	46.555	42.600		41.850	46.150	38.750	13.196	0.44	0.38	0.44	0.44	
AST, U/L	75.80	60.61	72.60		39.40	47.70	69.80	37.83	0.09	0.42	0.09	0.09	
ALT, U/L	35.22	32.05	36.45		31.35	25.82	33.25	8.44 <sup>d</sup>	0.05	0.58	0.05	0.05	
Creatinine, mg/dl	1.23	1.39	1.46		1.15	1.19	1.40	0.20 <sup>ce</sup>	0.02	0.61	0.02	0.02	
C-Reactive protein, mg/L	2.11	2.05	1.41		1.84	1.82	2.36	1.41	0.53	0.61	0.53	0.53	

<sup>a</sup>Pg=program, L=methionine level and Pg×L= interaction between program and methionine level.

<sup>b</sup>Linear tendence in IDP to methionine level (P<0.08). <sup>c</sup> Linear response in IPP to methionine level (P<0.05).

<sup>d</sup>Quadratic tendence in IPP to methionine level (P=0.08). <sup>e</sup> Linear response in 1PP to methionine level (P>0.08).

Current results showed none evidence that support methionine toxicity in any of the feed programs. In other hand is necessary to consider that methionine alone is not solely responsible for their toxicity. This amino acid is the precursor of homocysteine, the main metabolite responsible for occlusive vascular disease ((McCully, 1969)). The homocysteine concentration will regulate the consumption of methionine as the transmethylation and transsulfuration pathways (Toue et al., 2006). That is, extremely high plasma concentrations of methionine (hypermetilanemia) may be due to errors of metabolism (Mudd et al. 1967), not only to excess in the feed. In a study with rats (Toue et al., 2006) with additional methionine levels of 0, 0.3, 0.6, 1.2, and 2.4 interfered at 166 metabolites, highlighting here the indicators of anemia as hematocrit, hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin. More these, the methionine levels did changes in other plasma biochemical parameters, such as alanine aminotransferase, creatine phosphokinase, lactate dehydrogenase, total cholesterol, plasma urea and creatinine. Performance variables such as consumption and weight gain were also affected.

Anyway, it is important to start considering that more than adjust the lysine levels, it is necessary to study ad adjust the ratio of the other amino acids to lysine, current results point to a possibility that individuals have different ideal ratios to amino acids than populations, improving the use of this nutrient in conditions of reduced intake.

## **IMPLICATIONS**

These performance results suggest that the methionine levels have been underestimate to individuals, signaling for a possible difference in optimum methionine: lysine to individuals. Current results showed none evidence that support

methionine toxicity in any of the feed programs. The individually daily program showed linear response to depth at *longissimus dorsi* to increase the methionine: lysine ratio while within the traditional phase program had not response.

### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors express their gratitude to Fundação de Amparo a Pesquisa de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for the grants conceded.

### REFERENCES

- Barea, R. et al. 2009. The standardized ileal digestible valine-to-lysine requirement ratio is at least seventy percent in postweaned piglets. *Journal of Animal Science* 87: 935-947.
- Bertechini, A. G. 2006. *Nutrição de monogástricos*. UFLA.
- Brossard, L., J.-Y. Dourmad, J. Rivest, and J. Van Milgen. 2009. Modelling the variation in performance of a population of growing pig as affected by lysine supply and feeding strategy. *Animal* 3: 1114-1123.
- Bushman, B. J. 1999. Integrating results through meta-analytic review using SAS software. SAS Institute.
- Chung, T., and D. Baker. 1992a. Ideal amino acid pattern for 10-kilogram pigs. *Journal of Animal Science* 70: 3102-3111.
- Chung, T. K., and D. H. Baker. 1992b. Utilization of methionine isomers and analogs by the pig. *Canadian Journal of Animal Science* 72: 185-188.
- Conde-Aguilera, J., R. Barea, N. Le Floc'h, L. Lefaucheur, and J. van Milgen. 2010. A sulfur amino acid deficiency changes the amino acid composition of body protein in piglets. *animal* 4: 1349-1358.
- D'Mello, J. F. 2003. *Amino acids in animal nutrition*. CABI.

- Feng, Z. et al. 2006. Efficacy of methionine hydroxy analog and DL-methionine as methionine sources for growing pigs. *J. Anim. Veter. Adv* 5: 135-142.
- Fuller, M. F. 2004. *The encyclopedia of farm animal nutrition*. Cabi.
- Gaines, A. et al. 2003. Estimation of the ideal ratio of sulfur amino acids: lysine in diets for nursery pigs weighing 11-22 kg. *J Anim Sci* 81: 139.
- Gaines, A. et al. 2005. Estimation of the ideal ratio of true ileal digestible sulfur amino acids: lysine in 8-to 26-kg nursery pigs. *Journal of animal science* 83: 2527-2534.
- Hardwick, D. F., D. A. Applegarth, D. M. Cockcroft, P. M. Ross, and R. J. Calder. 1970. Pathogenesis of methionine-induced toxicity. *Metabolism* 19: 381-391.
- Hauschild, L., P. A. Lovatto, J. Pomar, and C. Pomar. 2012. Development of sustainable precision farming systems for swine: Estimating real-time individual amino acid requirements in growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science* 90: 2255-2263.
- Hauschild, L., C. Pomar, and P. A. Lovatto. 2010. Systematic comparison of the empirical and factorial methods used to estimate the nutrient requirements of growing pigs. *animal* 4: 714-723.
- Jean dit Bailleul, P., J. Rivest, F. Dubeau, and C. Pomar. 2001. Reducing nitrogen excretion in pigs by modifying the traditional least-cost formulation algorithm. *Livestock Production Science* 72: 199-211.
- Klasing, K. C. 2007. Nutrition and the immune system. *British Poultry Science* 48: 525-537.
- Knap, P. 2000. Time trends of Gompertz growth parameters in 'meat-type' pigs. *Animal Science* 70: 39-49.
- Knight, C., C. Atwell, C. Wuelling, F. Ivey, and J. Dibner. 1998. The relative effectiveness of 2-hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid and DL-methionine in young swine. *Journal of animal science* 76: 781-787.
- Lovatto, P. A., L. Hauschild, L. Hauptli, C. R. Lehnen, and A. d. Á. Carvalho. 2005. Modelagem da ingestão, retenção e excreção de nitrogênio e fósforo pela suinocultura brasileira. *Revista Brasileira de Zootecnia* 34: 2348-2354.

- Lovatto, P. A., C. R. Lehnen, I. Andretta, A. D. Carvalho, and L. Hauschild. 2007. Meta-análise em pesquisas científicas: enfoque em metodologias. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36: 285-294.
- McCully, K. S. 1969. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *The American journal of pathology* 56: 111.
- Mudd, S. H., H. L. Levy, and R. H. Abeles. 1969. A derangement in B<sub>12</sub> metabolism leading to homocystinemia, cystathioninemia and methylmalonic aciduria. *Biochemical and biophysical research communications* 35: 121-126.
- NCR. 1998. Nutrient requirements of swine. National Academy of Sciences-National Research Council Washington, DC.
- Nelson, D. L., A. L. Lehninger, and M. M. Cox. 2008. *Lehninger principles of biochemistry*. Macmillan.
- Patience, J. F. 1996. Precision in swine feeding programs: An integrated approach. *Animal Feed Science and Technology* 59: 137-145.
- Pomar, C., L. Hauschild, G.-H. Zhang, J. Pomar, and P. A. Lovatto. 2009. Applying precision feeding techniques in growing-finishing pig operations. *Revista Brasileira de Zootecnia* 38: 226-237.
- Pomar, C., I. Kyriazakis, G. C. Emmans, and P. W. Knap. 2003. Modeling stochasticity: Dealing with populations rather than individual pigs. *Journal of Animal Science* 81: E178-E186.
- Qiao, S. et al. 2008. The Optimum Methionine to Methionine Plus Cystine Ratio for Growing Pigs Determined Using Plasma Urea Nitrogen and Nitrogen Balance. *Asian-australasian journal of animal sciences* 21: 434-442.
- Rakhshandeh, A., J. K. Htoo, N. Karrow, S. P. Miller, and C. F. de Lange. 2014. Impact of immune system stimulation on the ileal nutrient digestibility and utilisation of methionine plus cysteine intake for whole-body protein deposition in growing pigs. *British Journal of Nutrition* 111: 101-110.
- Robbins, K., A. Saxton, and L. Southern. 2006. Estimation of nutrient requirements using broken-line regression analysis. *Journal of Animal Science* 84: E155-E165.

- Rostagno, H. S. et al. 2005. Composição de alimentos e exigências nutricionais. Tabelas brasileiras para aves e suínos 2.
- Sakomura, N. K., and H. S. Rostagno. 2007. Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos. Funep.
- Sauvant, D., P. Schmidely, J. J. Daudin, and N. R. St-Pierre. 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *animal* 2: 1203-1214.
- Simongiovanni, A., E. Corrent, N. Le Floch, and J. van Milgen. 2012. Estimation of the tryptophan requirement in piglets by meta-analysis. *animal* 6: 594-602.
- St-Pierre, N. R. 2007. Meta-analyses of experimental data in the animal sciences. *Revista Brasileira de Zootecnia* 36: 343-358.
- Toue, S. et al. 2006. Screening of Toxicity Biomarkers for Methionine Excess in Rats. *The Journal of Nutrition* 136: 1716S-1721S.
- Troen, A. M., E. Lutgens, D. E. Smith, I. H. Rosenberg, and J. Selhub. 2003. The atherogenic effect of excess methionine intake. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100: 15089-15094.
- Vaz, F., and R. Wanders. 2002. Carnitine biosynthesis in mammals. *Biochem. J* 361: 417-429.
- Wathes, C., H. H. Kristensen, J.-M. Aerts, and D. Berckmans. 2008. Is precision livestock farming an engineer's daydream or nightmare, an animal's friend or foe, and a farmer's panacea or pitfall? *Computers and Electronics in Agriculture* 64: 2-10.
- Wellock, I., G. Emmans, and I. Kyriazakis. 2004. Describing and predicting potential growth in the pig. *Animal science: an international journal of fundamental and applied research*.
- Whittemore, C., D. Green, and C. Schofield. 2001. Nutrition management of growing pigs. *BSAS OCCASIONAL PUBLICATION*: 89-96.
- Zhang, G., C. Pomar, J. Pomar, and J. R. E. d. Castillo. 2012. Precision feeding in growing-finishing pigs: estimating the dynamic requirements of lysine supporting maximal daily gain. 44: 171-176.
- Zhang, G. H., C. Pomar, J. Pomar, and J. R. E. Del Castillo. 2012. L'alimentation de précision chez le porc charcutier: Estimation des niveaux dynamiques de lysine

digestible nécessaires à la maximisation du gain de poids. Proc. 44th Journées de la Recherche Porcine, Paris, France: 171–176.

## **CAPÍTULO 5 – Considerações finais**

A presente dissertação permitiu estudar de forma sequencial e ampla os diferentes aspectos da suplementação de metionina para suínos. A revisão de literatura apresentado no capítulo 1, levantou diversas questões que poderiam implicar em diferentes resultados a suplementação de metionina, sendo as principais: fontes, níveis praticados, relação metionina: lisina, relação cisteína: metionina, fatores que afetam a utilização de metionina, e especialmente a diferença entre o sistema convencional por fases e o sistema individual e diário de alimentação de suínos em crescimento e terminação. Buscou-se então, maneiras de englobar os diferentes aspectos levantados de modo a formar uma visão global e sólida.

Inicialmente especulou-se qual seria a relação metionina: lisina mínima para máximo desempenho de uma população e se o resultado iria diferir entre as fontes. Mais que isso, perguntava-se quais os principais aspectos que deveriam ser observados para o sucesso do experimento com metionina. Através do capítulo 2, foi definida dentro da população estudada a relação mínima para máximo desempenho (26 %) de inclusão de metionina em função da lisina. Também foi possível observar que quando suplementado em base equivalente as fontes sintéticas de metionina não diferem entre si no que diz respeito ao desempenho de leitões na fase inicial. Esse capítulo ainda permitiu apontar como principal falha metodológica a determinação de exigências nutricionais de lisina para suínos em crescimento e terminação, falta de informação quanto condições experimentais e sanitárias, falta de dados sobre genética e sexo e especialmente a composição nutricional das dietas. Apontando para uma falta de padronização dos experimentos realizados com metionina.

Dessa maneira o passo subsequente foi definir corretamente as exigências de lisina para que pudesse ser estimada a exigência de metionina. Contudo hipotetizou-se que os métodos fatoriais comumente utilizados poderiam diferir entre si. Dessa maneira utilizou-se o modelo (Hauschild et al.,



2012) empregado no “*Automatic and Intelligent Precision Feeder*” (AIPF) assumindo que ele é capaz de estimar a exigência real de suínos em crescimento e terminação, devido as peculiaridades cabidas a ele. Como base de comparação utilizou-se o modelo comumente utilizado no Brasil (Rostagno et al., 2011) e na América do Norte (NRC, 2012). Foi possível observar que os dois últimos modelos superestimam as exigências nutricionais do indivíduo médio da população em 13%. Mais que isso, eles recomendam utilizar como base a média do período o que resulta em que metade da fase os animais estão subalimentados e na fase final superalimentados. Isso permitiu definir como melhor opção para alimentar um grupo de animais por fase, utilizar a exigência nutricional do suíno 80 centil da população no dia 1 da fase em questão.

Finalmente foi testada a hipótese de que a mesma relação metionina: lisina poderia ser aplicada tanto em um sistema individual e diário e em um sistema tradicional por fases. Esta hipótese foi refutada, mostrando que não ocorre nenhuma alteração metabólica que suporte uma hipótese de toxicidade em aumentar a relação metionina: lisina. E sem evidências de desafios sanitários, animais em um sistema de alimentação individual e diário que receberam 30% mais metionina que a exigência recomendada atualmente, apresentaram melhora de desempenho e aumento de área de olho de lombo na região do músculo *Longissimus dorsi* quando comparados ao nível ideal de inclusão de metionina. Não houve resposta a suplementação de metionina no grupo do sistema de alimentação tradicional e por fases. Mesmo utilizando uma relação de 21% de inclusão de metionina em função da lisina não houve perdas de desempenho, isso provavelmente devido ao método de estimação de exigências nutricionais utilizado. O estudo meta-analítico no capítulo 2, e a comparação entre os modelos fatoriais no capítulo 4, permitem afirmar que uma população com exigências nutricionais estimadas para um dos indivíduos mais exigentes do grupo no primeiro dia de estudo pode usar níveis de metionina levemente abaixo do recomendado com apenas 6% de perda de desempenho. Porém, o ideal é manter a margem de segurança utilizada,

principalmente a nível de produção à campo, onde os desafios sanitários são constantes e impactam na exigência de metionina.

Esse longo processo de estudo e a utilização de ferramentas como meta-análise, conceitos de modelagem e experimentação fundamentaram uma hipótese importante dentro da nutrição de precisão: provavelmente indivíduos tenham exigência de um perfil de aminoácidos diferente de população. Dessa maneira, além de implantar uma área de pesquisa inovadora no Brasil, esse projeto ampliou uma linha de pesquisa. Esta irá continuar, testando diferentes relações de aminoácidos sulfurados: lisina, reestudando o conceito de proteína ideal e avaliando a atual lei do mínimo. Esse foi o primeiro passo para a possível elaboração de um novo método de estimar exigência de metionina, podendo revolucionar a área de nutrição de precisão para suínos.