

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

**SUPLEMENTAÇÃO DE METIONINA, COLINA E BETAÍNA PARA GALINHAS
POEDEIRAS E CODORNAS JAPONESAS**

ALMIR FERREIRA DA SILVA

**RECIFE-PE
FEVEREIRO – 2019**

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA

SUPLEMENTAÇÃO DE METIONINA, COLINA E BETAÍNA PARA
GALINHAS POEDEIRAS E CODORNAS JAPONESAS

ALMIR FERREIRA DA SILVA

Zootecnista

RECIFE-PE
FEVEREIRO – 2019

ALMIR FERREIRA DA SILVA

**SUPLEMENTAÇÃO DE METIONINA, COLINA E BETAÍNA PARA
GALINHAS POEDEIRAS E CODORNAS JAPONESAS**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal Rural de Pernambuco e Universidade Federal do Ceará como requisito para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

Comitê de Orientação:

Orientador: Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello

Co-orientadores: Profa. Dra. Helena Emília Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso

Prof. Dr. Guilherme Rodrigues do Nascimento

**RECIFE-PE
FEVEREIRO – 2019**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S586s Silva, Almir Ferreira da
Suplementação de metionina, colina e betaina em dietas de galinhas
poedeiras e codornas japonesas / Almir Ferreira da Silva. – 2019.
92 f.: il.

Orientador: Carlos Bôa Viagem Rabello.

Coorientadores: Maria Guilherme Rodrigues do Nascimento e
Helena Emília Cavalcanti da Costa Cordeiro Manso.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Recife, BR-PE, 2019.

Inclui referências.

1. Galinhas - Alimentação e rações 2. Aminoácidos na nutrição
animal 3. Suplemento alimentar 4. Ovos - Produção 5. Homocisteína
6. Metil I. Rabello, Carlos Bôa Viagem, orient. II. Nascimento, Maria
Rodrigues do, coorient. III. Manso, Helena Emília Cavalcanti da Costa
Cordeiro, coorient. IV. Título

CDD 636

ALMIR FERREIRA DA SILVA

**SUPLEMENTAÇÃO DE METIONINA, COLINA E BETAÍNA PARA
GALINHAS POEDEIRAS E CODORNAS JAPONESAS**

Tese defendida e aprovada pela comissão examinadora em 26 de fevereiro de 2019.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Carlos Bôa-Viagem Rabello
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE
Presidente

Prof. Dr. Claudio José Parro de Oliveira
Universidade Federal de Sergipe – UFS

Prof^ª. Dr^ª. Maria do Carmo Mohaupt Marques Ludke
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

Dr. Marcos José Batista dos Santos
Programa Nacional de Pós-Doutorado
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

Prof. Dr. Danilo Teixeira Cavalcante
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Unidade Acadêmica de Garanhuns - UAG

RECIFE – PE

FEVEREIRO – 2019**DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

ALMIR FERREIRA DA SILVA – Filho de Ademir Ferreira da Silva e Maria Tereza Santos da Silva, nasceu no dia 08 de maio de 1983, na cidade de Duque de Caxias, Rio de Janeiro. cursou o ensino fundamental nos Colégios Nossa Senhora da Penha, Instituto Nossa Senhora da Glória e Colégio Sagrado Coração de Jesus. O ensino médio foi cursado no Colégio Dom Agostinho Ikas - CODAI, sendo concluído em dezembro de 2002. Em agosto de 2005 ingressou no curso de Bacharelado em Zootecnia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, tendo o concluído em junho de 2009. Durante a graduação, entre os anos de 2006 e 2009, foi bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica – PIBIC/CNPq, desenvolvendo projetos de pesquisa voltados à área de avicultura de corte e postura. Em Março de 2010 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, pela mesma instituição, para estudar e desenvolver pesquisas na área de Produção de Não Ruminantes. Em fevereiro de 2012 recebeu o título de Mestre em Zootecnia após ter sua dissertação intitulada “Exigência de fósforo disponível para galinhas poedeiras após o pico de postura” aprovada. Em Março de 2015 ingressou no Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia, na área de concentração em Produção Animal, na própria UFRPE, com bolsa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq. Em 26 de fevereiro de 2019 defendeu sua tese de doutorado.

“Nunca devemos desistir dos nossos objetivos, seja profissional ou pessoal. Por isso que Deus existe, para que a gente tenha fé sempre”.

— Xande de Pilares.

DEDICO

À minha mãe, Maria Tereza Santos da Silva e ao meu pai, Ademir Ferreira da Silva (*in memoriam*), que foram os responsáveis na árdua missão, que foi a minha formação humana, tendo em toda a minha vida provas de amor incondicional a mim.

Aos meus irmãos, Ademir Ferreira da Silva Junior e Roberto Ferreira da Silva, que sempre prestaram apoio à minha trajetória.

À minha querida e amada esposa e ao meu filho Davi, por todo o amor, cumplicidade, paciência e apoio incansável durante meus estudos no curso de doutorado. Ouvir “te amo” é bom, mas sentir o “te amo” em atitudes é melhor ainda.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por guiar meus passos e me proteger.

Aos meus pais, Maria Tereza e Ademir Ferreira, pelo amor e incentivo, e por sempre terem sido meus maiores exemplos de dignidade e bondade.

Aos meus irmãos e tios (Carlos e Graça), por sempre terem me incentivado.

Aos meus amores, Julia e Davi, pelo incentivo, paciência, companheirismo e por enfrentar comigo as dificuldades.

Aos meus sogros (Dona Edja e Sr. Jr.), por sempre terem acreditado em meu potencial.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, pela oportunidade de crescimento e realização profissional.

Ao Prof. Carlos Bôa-Viagem Rabello, pela orientação desde a graduação. Por toda paciência, conselhos, críticas, grandiosos ensinamentos e oportunidades concedidas. Agradeço por ter acreditado em mim, por ter me apoiado e compreendido minhas dificuldades.

Aos professores Wilson Moreira Dutra Junior, Guilherme Rodrigues e Helena Emília, pela co-orientação e contribuição na pesquisa.

Ao Dr. Marcos José Batista dos Santos, pela imensa contribuição nos ensinamentos científicos e análises estatísticas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

À BETCH, pela confiança e apoio na proposta científica e doação da betaína.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco: Lili, Reinaldo, Seu Dedinho, Rose, Lucinha e Seu Pedro, pela ajuda nos trabalhos desenvolvidos.

Aos alunos do grupo de pesquisa em avicultura da UFRPE: Bruna Santos, Lucas Delano, Oziel, Luís, Roberta, e a todos que me acompanharam ao longo dos experimentos de campo e análises laboratoriais. O apoio de vocês foi muito importante para que tudo desse certo. Obrigado!

Ao meu amigo-irmão Rafael Aquino, que sempre se fez presente na minha vida, desde os tempos de CODAI, permanecendo pela graduação e o mestrado. Pudemos compartilhar conhecimentos, trabalhos, alegrias, tristezas e frustrações. No doutorado,

mesmo seguindo caminhos distintos, sempre se fez presente, apesar de ter estado distante fisicamente. Obrigado por ser esse amigo tão especial e por me aconselhar na vida acadêmica e pessoal.

Ao amigo Heraldo, que tive a honra de conviver durante o doutorado. Sou muito grato pelos anos de convivência e por todo conhecimento compartilhado, além de viagens e, claro, aquela cerveja gelada. Obrigado pela sua amizade.

Aos amigos da Pós-Graduação que me acompanharam durante esta jornada e que pararam suas atividades e dedicaram um pouco do seu tempo pra me ajudar durante as inúmeras coletas de dados e pelos momentos de descontração: Waleska e Rogério, Andresa Farias, Camila Gomes, Bruno, Jussiede, Juliane Garlet, Sandra Gasparini, Robson, Giorgio, Bueno, Camilla Roana, Elaine Lopes, Sharlane, Gabriel Macambira, Ysnagmi., Arthurene, Gabi, Luis Wilker, Tomás e Lidyane Custódio.

Aos amigos da graduação que estiveram comigo durante a realização do experimento de campo e análises laboratoriais: Luís, Carol, Vítor, Luciano e Gabriel.

Aos amigos que, mesmo não conhecendo por dentro a vida de um pós-graduando, compreenderam minhas ausências, me deram força, estiveram ao meu lado nos momentos mais difíceis, me presenteando com amizades verdadeiras e foram meus grandes incentivadores: Jean Martins, João Fortunato, Henrique, César, Dejailson, Biel e Thiaguinho.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para o desenvolvimento desta tese.

SUMÁRIO

<u>LISTA DE TABELAS</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>LISTA DE FIGURAS</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>RESUMO GERAL</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>ABSTRACT</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>CONSIDERAÇÕES INICIAIS</u>	17
<u>CAPÍTULO 1: Referencial Teórico</u>	19
<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>CAPÍTULO 2</u>	30
Suplementação de metionina, colina e betaína em dietas de galinhas poedeiras	30
<u>RESUMO</u>	31
<u>ABSTRACT</u>	32
<u>INTRODUÇÃO</u>	33
<u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	34
<u>RESULTADOS</u>	38
<u>DISCUSSÕES</u>	45
<u>CONCLUSÃO</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	50
<u>CAPÍTULO 3</u>	54
Suplementação de metionina, colina e betaína em dietas de codornas japonesas durante a fase de crescimento	54
<u>RESUMO</u>	55
<u>ABSTRACT</u>	56
<u>INTRODUÇÃO</u>	57
<u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>RESULTADOS</u>	62
<u>DISCUSSÕES</u>	68
<u>CONCLUSÃO</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	71
<u>CAPÍTULO 4</u>	Erro! Indicador não definido.
Suplementação de metionina, colina e betaína em dietas de codornas japonesas durante a fase de postura	Erro! Indicador não definido.

<u>RESUMO</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>ABSTRACT</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>INTRODUÇÃO</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>RESULTADOS</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>DISCUSSÕES</u>	87
<u>CONCLUSÃO</u>	89
<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	Erro! Indicador não definido.
<u>CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES</u>	92

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- Tabela 1 Composição centesimal dos ingredientes e níveis nutricionais das rações experimentais para poedeira comerciais com 24 semanas de idade 35
- Tabela 2 Médias de desempenho produtivo de poedeiras de 24 semanas de idade alimentadas com rações apresentando diferentes relações de betaína, colina e metionina digestível.. 38
- Tabela 3 Médias da avaliação da qualidade dos ovos de poedeiras de 24 semanas de idade alimentadas com rações apresentando diferentes relações de betaína, colina e metionina digestível.. **Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 4 Parâmetros bioquímicos sanguíneos de poedeiras comerciais com 24 semanas de idade alimentadas com rações com diferentes relações de betaína, colina e metionina digestível.. 45

CAPÍTULO 3

- Tabela 1 Composição centesimal dos ingredientes e níveis nutricionais das rações experimentais para codornas japonesas na Fase 1 a 21 dias de idade..... 60
- Tabela 2 Composição centesimal dos ingredientes e níveis nutricionais das rações experimentais para codornas japonesas na Fase 22 a 35 dias de idade.**Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 3 Médias de desempenho produtivo de codornas japonesas de 1 a 35 dias de idade alimentadas com rações apresentando diferentes suplementações de metionina, colina e betaína..... **Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 4 Médias de peso absoluto (g) e relativo (%) do fígado, proventrículo, moela, intestino e pâncreas de codornas japonesas com 21 dias de idade, alimentadas com dietas apresentando diferentes suplementações de metionina, colina e betaína..**Erro! Indicador não definido.**
- Tabela 5 Médias de peso absoluto (g) e relativo (%) do fígado, proventrículo, moela, intestino e pâncreas de codornas japonesas com 35 dias de idade, alimentadas com dietas apresentando diferentes suplementações metionina, colina e betaína. **Erro! Indicador não definido.**

CAPÍTULO 4

Tabela 1 Composição centesimal dos ingredientes e níveis nutricionais das rações experimentais para codornas japonesas na fase produção de ovos_.....80

Tabela 2 Médias de desempenho produtivo de codornas japonesas alimentadas com rações apresentando diferentes suplementações de metionina, colina e betaína_ 83

Tabela 3 Médias da avaliação da qualidade dos ovos de codornas japonesas alimentadas com rações contendo diferentes suplementações de metionina colina e betaína_..... 85

Tabela 4 Componentes bioquímicos de codornas japonesas alimentadas com rações apresentando diferentes suplementações de metionina, colina e betaína_..... 86

LISTA DE FIGURAS**CAPÍTULO 1**

Figura 1 Ciclo da Homocisteína	22
--------------------------------------	----

CAPÍTULO 2

Figura 1 . Efeito dos diferentes níveis de suplementação de betaína em substituição total por cloreto de colina (%) sobre a produção de ovos em dietas de galinhas poedeiras com redução dos teor de metionina+cistina digestível.	42
---	----

Figura 2 . Efeito dos diferentes níveis de suplementação de betaína em substituição total por cloreto de colina (%) sobre a produção de ovos em dietas de galinhas poedeiras com redução dos teor de metionina+cistina digestível.	42
---	----

Figura 3 . Efeito das diferentes relações entre betaína, colina e metionina+cistina digestível sobre a produção de ovos em dietas de galinhas poedeiras.	44
---	----

SUPLEMENTAÇÃO DE METIONINA, COLINA E BETAÍNA PARA GALINHAS POEDEIRAS E CODORNAS JAPONESAS

RESUMO GERAL

Com o objetivo de avaliar a suplementação de metionina, colina e betaína em dietas de galinhas poedeiras e codornas japonesas, realizaram-se três experimentos no laboratório de digestibilidade de Não Ruminantes pertencente à UFRPE. No primeiro ensaio, avaliou-se o desempenho, a qualidade dos ovos e a bioquímica sérica de poedeiras comerciais com idade de 24 semanas. Utilizaram-se 216 aves por um período de 112 dias divididos em quatro ciclos de 28 dias, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado composto por 6 tratamentos, 6 repetições e 6 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram: controle positivo (CP) - ração atendendo às recomendações para a fase de postura; controle negativo (CN) - ração com redução dos níveis de metionina sem a suplementação da metionina, colina e betaína; CN+Colina - ração CN com suplementação de 800 mg/kg de colina; CN+0,06%Betaína - ração CN com suplementação de 400 mg/kg de colina e 600 mg/kg de Betaína; CN+0,08%Betaína - ração CN com suplementação de 200 mg/kg de colina e 800 mg/kg de Betaína; CN+0,12%Betaína - ração CN com suplementação de 1200 mg/kg de betaína. Observou-se que as dietas influenciaram todas variáveis de desempenho estudadas. Para a qualidade de ovos, foram detectadas diferenças para os pesos de albúmen, gema e casca. Os componentes bioquímicos do sangue não foram afetados pelos tratamentos experimentais. No segundo experimento avaliou-se o desempenho e o desenvolvimento de órgãos do trato digestivo de codornas japonesas alimentadas com dietas apresentando diferentes suplementações de metionina, colina e betaína durante a fase de crescimento. Utilizaram-se 1200 codornas com um dia de idade, divididas em duas fases de criação: 1 a 21 e 22 a 35 de idade. O delineamento e a distribuição dos tratamentos seguiram os mesmos procedimentos e critérios desenvolvidos no primeiro experimento. A suplementação de 1050 mg/kg de betaína e 250 mg/kg de colina em dietas com 100 mg/kg de metionina demonstraram melhores resultados nos primeiros 21 dias, e também influenciaram o peso de fígado, intestino e moela das aves. Aos 35 dias, a suplementação de betaína 600 mg/kg de betaína e 500 mg/kg de colina demonstraram melhores índices de conversão alimentar e o peso relativo do intestino. O terceiro

experimento foi realizado com codornas japonesas durante a fase a postura, utilizando dietas com diferentes suplementações de metionina, colina e betaína. Utilizaram-se 216 codornas japonesas, fêmeas, com 63 dias de idade, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado, em 6 tratamentos, 6 repetições e 6 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram compostos pelos mesmos critérios estabelecidos dos capítulos anteriores, porém com substituição parcial de betaína e colina em mg/kg pela metionina de acordo com a exigência nutricional da fase. Assim, os tratamentos foram: controle positivo (CP) - ração atendendo às recomendações para a fase de postura; controle negativo (CN) - ração com redução dos níveis de metionina sem a suplementação da metionina, colina e betaína; CN+Colina - ração CN com suplementação de 1000 mg/kg de colina; CN+0,07%Betaína - ração CN com suplementação de 500 mg/kg de colina e 700 mg/kg de betaína; CN+0,10% Betaína - ração CN com suplementação de 300 mg/kg de colina e 1000 mg/kg de betaína; CN+0,12%Betaína - ração CN com suplementação de 1200 mg/kg de betaína. Nos resultados de desempenho, houve influência dos tratamentos para as características de percentagem de postura, peso médio e massa de ovos e conversão alimentar por massa e por dúzia de ovos. A percentagem de postura demonstrou maior efeito significativo para aves do tratamento cn+0,10%betaína. Para a variável de peso médio e massa dos ovos, as aves do tratamento CN+Colina e cn+0,07% betaina apresentaram maior eficiência para as respectivas variáveis. Para qualidade de ovos, os tratamentos influenciaram apenas as características de peso de gema e percentual de casca, sendo as aves do tratamento CN+Colina e CN que apresentaram melhores resultados para as respectivas variáveis. Para os componentes bioquímicos do sangue não houve influência do ácido úrico, proteínas totais, albumina, creatinina, AST e ALT de codornas japonesas durante a fase de postura sobre os tratamentos estudados.

Palavras-chaves: Aminoácidos sulfurados; Betaína-homocisteína-metil-transferase Bioquímica sérica; Grupamentos metil; Inter-relações.

METHIONINE, CHOLINE AND BETAINE SUPPLEMENTATION TO LAY HENS AND JAPANESE QUAILS

GENERAL ABSTRACT

With the objective of to evaluate the Methionine, Choline and Betaine supplementation in the diet to lay hens and Japanese quails, was realized three experiments in the Non-Ruminant Digestibility Lab to Bird Research of the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE). In the first test, was evaluate the performance, the egg quality and the blood Biochemistry levels of commercial lay hens with 24 weeks age. Were utilized 216 lay hens, in a period of 112 days divided in four cycle of 28 days, distributed in a completely randomized design, composted by 6 treatments, 6 repetitions and 6 birds per experimental unit. The treatments were: Positive Control (PC) – ration that attend the recommendations to laying phase; Negative Control (NC) – ration with Methionine level reduction without Methionine, Choline and Betaine supplementation; Negative Control plus Choline (NC+Choline) – NC ration with 800 mg/kg Choline supplementation; Negative Control plus 0.06% of Betaine (NC+0.06%Betaine) – Negative Control ration with 400 mg/kg Choline and 600 mg/kg supplementations; Negative Control plus 0.08%Betaine (NC+0.08%Betaine) – NC ration with 200 mg/kg Choline and 800 mg/kg Betaine supplementations; Negative Control plus 0.12% Betaine (NC+0.12%Betaine) – NC ration with 1,200 mg/kg Betaine supplementation. Was observe that the diets influenced all performance variables studied. For the egg quality, was verified significative differences to albumen, yolk and egg shell weights. The blood elements weren't affected by the treatments. In the second experiment, was evaluated the performance and the digestive tract development of Japanese quail's feds with diets with different supplementations of Methionine, Choline and Betaine during the phase of growing. Were used 1,200 quails with 1 day of age and the period was divided in two phases: 1 to 21 weeks age and 22 to 35 weeks age. The designed and treatments distributions followed the same precedents and criteria of first phase. The supplementation of 1,050 mg/kg of Betaine and 250 mg/kg of Choline in diets with 100 mg/kg of Methionine, demonstrated better results in the first 21 days and too influenced the liver weight, intestine and gizzard. At 35 days, the Betaine supplementation of 600

mg/kg and Choline 500 mg/kg showed better indices to feed conversion and relative weight of intestine. The third experiment was realized with Japanese quails fed with different relations between Methionine and Choline during the laying phase. Were utilized 216 Japanese quails, females, with 63 days age. The birds were distributed in totally randomized design in 6 treatments, 6 repetitions and 6 birds per experimental unit. The treatments were composed by the same criteria of the previews two chapters, but with partially substitution of Betaine and Choline in mg/kg by Methionine in accord with the phase nutritional requirements. Thus the treatments were: Positive Control (PC) – ration attended to nutritional recommendation to laying phase; Negative Control (NC) – ration with Methionine levels reduction without Methionine, Choline and Betaine supplementation; NC+Choline – NC ration supplemented with 1,000 mg/kg of Choline; NC+0.07%Betaine – NC ration with 500 mg/kg of Choline and 700 mg/kg of Betaine supplementations; NC+0.010%Betaine – NC ration with supplementation of 300 mg/kg of Choline and 1,000 mg/kg of Betaine; NC+0.13%Betaine – NC ration with 1,300 mg/kg of Betaine supplementation. In the performance results, occurred influence of the treatments to laying percentage, average egg weight, egg mass, feed conversion per egg mass and per dozen. The laying percentage showed better significant effect to NC+0.10%Betaine treatment. To average egg weight and egg mass, the birds of NC+Choline and NC+0.07%Betaine presented more efficiency. To egg quality, the treatments influenced only the yolk weight and egg shell percentage were the animals of NC+Choline and NC treatments presented the better results. To Biochemistry blood levels don't occur influence of uric acid, total proteins, albumin, creatinine, AST and ALT of Japanese quails during laying phase between the treatments.

Key-words: Sulfurases Amino Acids, Betaine-Homocysteine-Metil-Transferase, Seric Biochemistry, Metil Groups, Inter relations.

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Nos últimos anos, os estudos relacionados à molécula de betaína têm chamado atenção dos pesquisadores devido ao seu alto potencial em doar grupamentos metílicos. Sua utilização com intuito de reduzir a inclusão de DL-metionina e substituir de forma parcial ou totalmente a colina nas rações permite que, em situações estratégicas, os custos com a alimentação sejam reduzidos em função da betaína diminuir o uso de metionina para atender às exigências de aminoácidos sulfurados das aves.

Em dietas de frangos de corte, poedeiras comerciais e codornas japonesas, a deficiência de metionina das dietas, ocasionada pela quantidade insuficiente de aminoácidos presente na composição do milho e do farelo de soja, normalmente é corrigida pela suplementação de DL-metionina (DLM-99%) ou metionina hidróxi-análoga líquida (MHA-88%). No entanto, outras substâncias encontradas nos ingredientes das rações também são responsáveis pelo fornecimento de grupamentos metil para a síntese proteica, como é o caso da colina e betaína.

Os grupos metil são essenciais em diversas reações bioquímicas, como a regeneração do DNA/RNA e a síntese de proteína e lipídios. A colina, apesar de ser classificada como uma vitamina, também é considerada uma fonte importante de grupamentos metil em reações de metilação. Já a betaína possibilita que a metionina seja direcionada à síntese proteica, poupando, assim, participação desse aminoácido na doação de grupos metil.

As propriedades doadoras de radicais metil das moléculas de metionina, colina e betaína e como elas interagem entre si no metabolismo são evidentes, porém utilizar processos metabólicos ou bioquímicos do organismo para adotar uma recomendação nutricional econômica, pode não ser uma estratégia muito simples.

Dessa forma, objetivou-se com o presente estudo avaliar os efeitos sobre desempenho, qualidade de ovos e bioquímica sérica de aves alimentadas com dietas contendo diferentes níveis de suplementações entre metionina, colina e betaína.

O Capítulo 1 apresenta um referencial teórico enunciando as informações referentes às características da molécula de betaína e seu metabolismo, as funções da metionina e suas interações com a colina e betaína, além de algumas abordagens sobre os estudos realizados na nutrição de aves. No Capítulo 2 apresentam-se os resultados

referentes ao desempenho, qualidade de ovos e componentes bioquímicos do sangue de galinhas poedeiras submetidas a dietas com diferentes suplementações entre metionina, colina e betaína durante a fase de produção de ovos. No Capítulo 3 estão apresentados os resultados de desempenho e peso de órgãos do estudo conduzido com codornas japonesas durante a fase de crescimento. Por fim, no Capítulo 4, estão demonstrados os resultados do efeito dos tratamentos sobre o desempenho produtivo, qualidade de ovos, níveis séricos e peso de órgãos de codornas japonesas durante a fase de postura.

CAPÍTULO 1

Referencial Teórico

CONSIDERAÇÕES SOBRE METIONINA, COLINA E BETAÍNA

Segundo os dados publicados pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2017), o crescimento projetado da população mundial em 2050 para 9,8 bilhões será 29% a mais do número atual de habitantes, e o crescimento será maior nos países em desenvolvimento, onde 70% da população será urbana com níveis de renda maiores do que os atuais. Assim, a produção de cereais terá que aumentar para 3 bilhões toneladas/ano em relação aos 2,5 bilhões produzidos atualmente. Com relação à produção de carne, precisará aumentar em mais de 200 milhões de toneladas.

Com isso, o foco na produção de produtos de origem animal para atender a essa demanda tem proporcionado buscas constantes no aumento da eficiência de produtividade. No setor avícola não é diferente; por ser um dos setores mais produtivos e competitivos do mundo, o uso de tecnologias alimentares que flexibilize o volume de ingredientes necessários para alimentação das aves tem se tornado cada vez mais presente nos sistemas de produção.

Neste contexto, o uso de betaína como forma de minimizar os custos na alimentação causados pelas oscilações de preços da DL-metionina no mercado mostra-se como uma excelente ferramenta para os nutricionistas manterem os índices de eficiência produtiva dos animais. Entre os anos de 2014 e 2015, por exemplo, a escassez de metionina ocasionada por problemas de ordem ambiental e fornecimento de insumos intermediários ocorridos em plantas de fabricantes da China e Estados Unidos resultaram em altos preços do produto, diminuindo a receita e a margem de lucro dos produtores. Dessa forma, qualquer manejo nutricional que possa reduzir a necessidade de inclusão desse aminoácido é receptivo pela indústria de produção animal.

A betaína, além de doar grupos metílicos, apresenta características osmóticas que fornecem benefícios à saúde dos animais. Graças às suas características bipolares e elevada solubilidade em água é utilizada pelos numerosos tecidos como um osmólito que permite que os animais mantenham o equilíbrio hídrico nos tecidos e nas células sem ter efeito adverso na função celular (KIDD et al., 1997).

A colina também pode ser considerada uma alternativa para economizar metionina das rações. Além de ser uma vitamina essencial para transmissão dos

impulsos nervosos (KIDD et al., 1997), pode gerar betaína em seu metabolismo pela ação de enzimas específicas como a colina oxidase e betaína aldeído desidrogenase em reações de metilação (RATRIYANTO et al., 2009).

A substituição parcial da metionina pela colina ou betaína parece não ser quantitativamente suficiente para garantir o máximo crescimento das aves, pois a eficiência da betaína e da colina em poupar a metionina é limitada, não conseguindo conferir uma ótima taxa de desenvolvimento, mesmo em aves jovens, as quais têm uma insuficiente síntese de colina (SIMON, 1999).

Devido à composição do milho e farelo de soja, ingredientes de maior participação nas rações, apresentarem baixas quantidades de aminoácidos sulfurados, a metionina tornou-se o primeiro aminoácido limitante nas rações de aves, pois é amplamente utilizado nas reações de metilação, atuando como doadores de grupamentos metil para a síntese proteica (LEESSON; SUMMERS, 2001).

A metionina é uma fonte alternativa de cisteína num processo não-reversível, com função importante nas estruturas de várias proteínas (imunoglobulinas, insulina), assumindo o papel de ligar várias cadeias polipeptídicas por meio de pontes dissulfeto (NELSON; COX, 2005). Além disso, participa da síntese de glutathione peroxidase, um importante sistema antioxidante celular para o organismo dos animais (TESSERAUD et al., 2009).

Segundo Wu et al. (2005), a metionina também é responsável pelo fornecimento de enxofre para a síntese de cisteína que, por sua vez, atua na formação de proteína corporal, da pele, das penas e pelos. Além disso, atua sobre síntese de taurina, que age como um transmissor neuro inibidor juntamente com a glicina, exercendo efeito como um agente lipotrófico por meio do seu envolvimento no metabolismo da colina, betaína, ácido fólico e da vitamina B12 (CHEN et al., 1993).

Quantitativamente, a reação de metilação mais significativa em aves ocorre para a síntese de purinas, que tem como principal destino a formação de moléculas de ácido úrico. Nesta reação, para a formação de um mol de ácido úrico, cada nitrogênio da molécula exige dois moles de grupamento metílicos (PESTI et al., 1979).

Tal como outros animais, as aves também são intolerantes à hiperhomocisteinemia sendo que seus valores plasmáticos e de excretas refletem a síntese celular (NEVES et al., 2004). Desta forma, a remetilação da homocisteína

(homocisteína + CH₃-metionina) é uma reação imprescindível para a saúde animal. Esta etapa requer um aceptor metilado (PANIZ et al., 2005), que pode ser cedido pela betaína, conferindo esta molécula a capacidade de poupar metionina.

A homocisteína pode ser convertida de volta a metionina após a adição de grupos metil dependente da enzima metil sintase (MS) e da vitamina B12, ou pela betaína, dependente da enzima betaína-homocisteína metiltransferase (BHMT). A função básica da BHMT é catalisar o transporte do grupo metil pré-formado da molécula de betaína para a homocisteína (EKLUND et al., 2005).

METABOLISMO: RELAÇÕES DE METILAÇÃO, REMETILAÇÃO E TRANSULFURAÇÃO

O mecanismo que envolve as reações que formam os vários componentes essenciais para diversas funções fisiológicas a partir da metionina é denominado de ciclo da homocisteína, o qual pode ser dividido em três etapas distintas: metilação, remetilação e transulfuração, como pode ser observado na Figura 1:

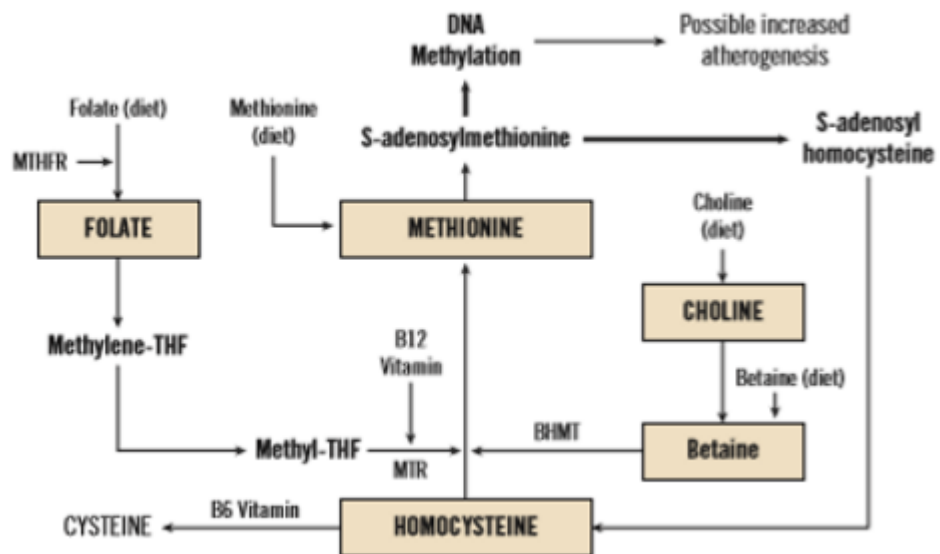


Figura 1. Ciclo da Homocisteína (SAEED et al. 2017)

A homocisteína é derivada da metionina proveniente da dieta, e num processo metabólico intermediário na via biossintética pode ser direcionada para formação de cisteína. Este é um aminoácido sintetizado a partir da metionina por meio do processo de transulfuração, no qual a transferência de radicais metil para as reações de metilação

ocorre após a ativação da metionina como um doador de metilo para S-adenosilmetionina (SAM), sendo esta conversão mediada pela enzima S-adenosil-metiltransferase. Esta ativação permite que este metabólito seja conduzido em duas vias metabólicas diferentes, ou seja: após a conversão da metionina em S-adenosilmetionina, o grupo metila da S-adenosilmetionina é transferido para um acceptor que produz S-adenosil-homocisteína. Posteriormente, esse produto desmetilado é hidrolisado liberando a homocisteína, e num processo de reação irreversível é transformada em cisteína livre.

Na segunda rota alternativa, a homocisteína pode receber grupos metila a partir da oxidação da colina a betaína e também de outras fontes como a biotina e o tetra-hidrofolato, que apresenta baixo potencial de transferência desse grupo metila na maioria das reações biossintéticas. Porém, o SAM é o principal cofator para transferências biológicas do grupo metila.

A metionina é regenerada pela transferência de um grupo metil para a homocisteína, em reação catalisada pela metionina-sintetase. No processo de remetilação, o retorno da homocisteína para metionina é conseguida por duas enzimas específicas: a betaine-homocisteína-metiltransferase (BHMT) e a tetra-hidrofolato-metiltransferase (THFMT). As reações químicas catalisadas por ambas as enzimas disponibilizam um grupo de um carbono (CH₃), que é incorporado à homocisteína no qual retorna ao produto original do ciclo, a metionina.

O catabolismo da betaína proporciona 3 grupos de metil, porém apenas um pode atuar como um doador de metil na conversão da homocisteína em metionina. Esta reação catalisada especificamente pela BHMT, que é uma outra enzima dependente da vitamina B12, encontrada em quantidades significantes somente no fígado, realiza o transporte do pré-formado grupo metilo a partir da molécula de betaína para a homocisteína. Os outros dois grupamentos entram no grupo de folato para a formação de 5, 10-metilenetetra-hidrofolato nas mitocôndrias.

O produto final do catabolismo de betaína forma a molécula de glicina, que é usada como acceptor metilado para a (SAM) quando as concentrações destas se tornam muito altas. A enzima responsável por este processo é a glicina N-metiltransferase (EKLUND et al., 2005; NELSON; COX, 2014; SANTANA et al., 2014).

As reações de metilação permitem classificar a betaína também como agente lipotrófico e melhorador de carcaça, pois sua suplementação nas dietas faz com que a colina, ao invés de ser oxidada a betaína a doar grupos metil para síntese de substâncias como carnitina e creatina a partir da homocisteína, seja direcionada para síntese de fosfolípídeos importantes como a lecitina.

Além disso, a betaína pode afetar positivamente a digestibilidade de gordura por estimular a síntese de quilomícrons, assim como de outros nutrientes por induzir o aumento da atividade contrátil das células do músculo liso duodenal associado à melhora na secreção pancreática e mistura da digesta (EKLUND et al., 2005).

BETAÍNA E COLINA NA NUTRIÇÃO DE AVES

A suplementação de metionina nas rações de aves permite reduzir os níveis de proteína bruta recomendados pelas tabelas de exigência nutricional. No entanto, para que o seu uso como aminoácido priorizado para síntese proteica seja possível é necessário que a metionina esteja em adequação com a colina e betaína, ingredientes de menor custo nas rações que podem contemplar a função de metilação sem exigir radicais metil e sejam oriundos da metionina (CASTRO et al., 2011).

Caso os doadores de grupamentos metílicos, como betaína e colina, estiverem deficientes na dieta, possivelmente será necessário maior quantidade de metionina para manter as reações críticas de metilação, e, conseqüentemente, menor disponibilidade de metionina estará disponível para a síntese de proteínas e crescimento (BERTOLO; MCBEAIRTY, 2013). Por outro lado, em dietas com deficiência em metionina há resposta positiva da suplementação da colina ou betaína para o crescimento dos animais, devido a uma parte da exigência de metionina da dieta ser suprida pela suplementação destes dois compostos (PILLAI et al., 2006)

Hassan et al. (2005), avaliando o desempenho e os componentes bioquímicos do sangue de pintos de corte de crescimento lento alimentados com dietas suplementadas com níveis de betaína variando de 720 mg a 1440 mg/kg em combinação com doses crescentes de colina, verificaram que tanto o ganho de peso quanto os níveis séricos de albumina e proteínas totais apresentaram melhora significativa em relação à dieta teste.

Para avaliar a eficiência de utilização da betaína em poupar DL- metionina em dietas para frangos de corte, Schutte et al. (1997) demonstraram que a suplementação de

400 mg/kg de betaína, independente da inclusão de DL-metionina, foi suficiente para melhorar a conversão alimentar e elevar o rendimento de carcaça em 0,3%. Porém, quando os pesquisadores acrescentaram 500 mg/kg de DL-metionina nas dietas, o rendimento de peito elevou-se em 1,5%, fato que pode estar relacionado ao modo de ação da betaína, ou seja: o efeito modificador de carcaça não está ligado apenas à função de doadora de grupamentos metil nas reações de metilação da homocistina, mas também por estar envolvida em interações diretas por meio dos seus metabólitos na regulação de vias metabólicas que afetam o crescimento.

Em galinhas poedeiras, Zou e Lu (2002), utilizando aves com 20 semanas de idade, demonstraram que a suplementação de betaína em 600 mg/kg elevou a produção de ovos em 8,2%, reduziu a conversão alimentar em 9,02%, e a gordura abdominal em 19,63%. No entanto, quando foi observada a gordura do fígado, a dose de betaína reduziu em 8,52% e 16,28% quando comparado às aves apresentavam entre 50 a 70 semanas de idade, respectivamente. Os autores relatam que a betaína pode ter influenciado negativamente a síntese da lipoproteína (MDH), que, por sua vez, está diretamente envolvida na formação da enzima NADPH, uma enzima que, por meio das reações de doação hidrogênio, estimula a síntese de ácidos graxos. Assim, com a diminuição concentração de MDH e a redução de NADPH foi possível reduzir os processos de síntese de cadeia de ácidos graxos nos tecidos no fígado, assim como a produção de hormônios.

Zhan et al. (2006), avaliando o efeito da suplementação da DL-metionina e betaína sobre o desempenho em frangos de corte de 22 a 42 dias de idade, concluíram que a betaína na condição de fornecedora de grupamentos metil, pode atender às demandas de metionina sua função de aminoácido essencial, desde que as dietas estejam moderadamente deficiente em metionina. Neste estudo, apenas a suplementação de 500 mg/kg de betaína em rações com redução de 24% dos níveis de metionina digestível da exigência das aves foram suficientes para elevar o ganho de peso em 6,6% e a conversão alimentar em 7%.

Em experimentos realizados com codornas japonesas em fase de produção, Avelar et al. (2017) verificaram que o desempenho das aves, com exceção do peso médio dos ovos, não foi afetado quando houve suplementação de 1,3 kg/ton de betaína

na forma natural, e 1,5 kg/ton de betaína na forma sintética em dietas formuladas com redução de 10% nos níveis recomendados de metionina+cistina digestível.

Apesar da forte interação entre metionina, colina e betaína, segundo Pillai et al. (2006) apontam que as inter-relações entre esses nutrientes precisam ser mais exploradas em aves comerciais, principalmente sobre o processo de remetilação (reciclagem da metionina) hepática da homocisteína, pois algumas considerações quanto ao nível de metionina em dietas teste dos experimentos encontram-se acima da exigência das aves, e a retirada de parte da suplementação de DL- metionina com a inclusão de betaína suplementar, pode indicar resultados inconclusivos. Neste caso, a quantidade de metionina suplementar ainda presente nas rações pode suprir o requerimento do animal.

Por outro lado, se ainda as dietas referência dos experimentos sejam deficientes também em colina, a suplementação de metionina e betaína poderá ser direcionada para suprir a falta de colina. Neste caso, os resultados experimentais também poderão ser inconclusivos, já que a função da betaína suplementar na dieta é poupar parte da suplementação de metionina. Assim, é necessário o conhecimento real das recomendações de colina para cada fase de criação das aves.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVELAR, C.A.S.; CLEMENTE, A.H.S.; FASSANI, E.J.; BERTECHINI, A.G.; AMARAL, R.C.; SANTOS, L.C. ELAR, C.A.S.. Ação da betaína natural e sintética sobre o desempenho de codornas japonesas em postura - **VI SIMPÓSIO INTERNACIONAL E V CONGRESSO BRASILEIRO DE COTURNICULTURA**. 2017, Lavras.

BERTOLO, R.F.; MCBREAIRTY, L.E. The nutritional burden of methylation reactions. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v16, p.102–108, 2013.

CASTRO, S.F.; FORTES, B.D.A.; CARVALHO, J.C.C.; BERTECHINI, A.G.; QUEIROZ, L.S.B.; GARCIA JR, A.A.P. Relação metionina e colina dietética sobre o desempenho de codornas japonesas (*coturnix coturnix japonica*) em postura. **Ciência Animal Brasileira**, v.12, n.4, p. 635 - 641, 2011.

CHEN, P.; JOHNSON, P.; SOMMER, T.; JENTSCH, S. AND HOCHSTRASSER, M. Multiple ubiquitin conjugating enzymes participate in the in vivo degradation of the yeast *mat α* repressor. **Cell Press**, v.74, p.357-369, 1993.

EKLUND, M.; BAUER, E.; WAMATU, J.; MONSENTHIN, R. Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. **Nutrition Research Review**, v.18, n.1, p.31-48, 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – Brasília, 28 de junho 2017, 2017. Disponível em: <http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/en/c/901168/>

HASSAN, R.A., ATTIA, Y.A., EL-GANZORY, E.H. - Growth, carcass quality and serum constituents of slow growing chicks as affected by betaine addition to diets containing different levels of choline. **International Journal of Poultry Science**, v.4, n.11, p.840-850, 2005.

KIDD, M.T.; FERKET, P.R.; GARLICH, J.D. - Nutritional and osmoregulatory functions of betaine. **World's Poultry Science Journal**, v.53, n.2, p.125-139, 1997.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Nutrition of the chicken**. 4^a ed. University Books. Guelph. 591 pp, 2001.

NEVES, L.B.; MACEDO; D.M.; LOPES, A.C. Homocisteína. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, n. 5, p.311-20, 2004.

NELSON, D.L.; COX, M.M.M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, 2014.

PANIZ, C.; GROTTTO, D.; SCHMITT, G. C.; VALENTINI, J.; SCHOTT, K. L.; POMBLUM, V. J.; GARCIA, S. C. Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.41, n.5, p.323-34, 2005.

PESTI, G. M; HARPER, A. E; SUNDE, M. L. Sulfur amino acid and methyl donor status of corn-soy diets fed to starting broiler chicks and turkey poultry's. **Poultry Science**, v.58, n.6, p.1541-1547, 1979.

PILLAI, P.B.; FANATICO, A.C.; BLAIR, M.E. AND EMMERT, J.L. Homocysteine remethylation in broilers fed surfeit choline or betaine and varying levels and sources of methionine from eight to twenty-two days of age. **Poultry Science**, v.85, p.1729-1736, 2006.

RATRIYANTO, A.; MOSENTHIN, R.; BAUER, E.; EKLUND, M. Metabolic osmoregulatory and nutritional functions of betaine in monogastric animals. **Asian-Australaian Journal Animal Science**, v.22, n.10, p.1461-1476, 2009.

SAEED, M.; BABAZADEH, D.; NAVEED, M.; ARAIN, M.A.; HASSAN, F.U.; CHAO, S. Reconsidering betaine as a natural anti-heat stress agent in poultry industry: a review. **Tropical Animal Health Production**. DOI 10.1007/s11250-017-1355-z.

SANTANA, M.H.M.; COSTA, F.G.P.; LUDKE, J.V.; FIGUEIREDO JUNIOR, J.P. Interações nutricionais entre aminoácidos sulfurosos, colina e betaína para aves. **Archivos de Zootecnia**, v.63, p.69-83, 2014.

SCHUTTE, J. B.; JONG, J.; SMINK, W.; PACK, M. Replacement Value of Betaine for DL-Methionine in Male Broiler Chicks. **Poultry Science**, v.76, p.321–325, 1997.

SIMON, J. Choline, betaine and methionine interactions in chickens, pigs and fish (including crustaceans). **World's Poultry Science Journal**, v.55, n.4, p.353- 374, 1999.

TESSERAUD, S.; COUSTARD, S.M.; COLLIN, A. AND SEILIEZ, I. Role of sulfur amino acids in controlling nutrients metabolism and cell functions: implications of nutrition.. **British Journal Nutrition**, v.101, p.132-1139, 2009.

WU, G. Interrelationship among methionine, choline and betaine in channel catfish – **Journal of the Aquaculture Society**, v.36, n.3, 2005.

ZHAN, X. A.; LI, J.X.; XU, Z.R.; ZHAO R.Q. Effects of methionine and betaine supplementation on growth performance, carcass composition and metabolism of lipids in male broilers. **British Poultry Science**, v.47, n.5, p.57-580, 2006.

ZOU, X.; LU, J. J. Effect of betaine on the regulation of the lipid metabolism in laying hens. **Agriculture Science in China**, v.1, n.9, p.1043-1049, 2002.

CAPÍTULO 2

Suplementação de metionina, colina e betaína em dietas de galinhas poedeiras

RESUMO

Objetivou-se com o presente estudo avaliar o desempenho, a qualidade dos ovos e a bioquímica sérica de poedeiras comerciais alimentadas com dietas formuladas apresentando diferentes suplementações de metionina, colina e betaína. Neste

experimento utilizou-se 216 galinhas da linhagem Dekalb White com idade de 24 semanas, por um período de 112 dias divididos em quatro ciclos de 28 dias. Os tratamentos foram distribuídos num delineamento inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos, seis repetições e seis aves. As dietas experimentais foram: controle positivo (CP) - ração atendendo às recomendações para a fase de postura; controle negativo (CN) - ração com redução dos níveis de metionina sem a suplementação da metionina, colina e betaína; CN+Colina - ração CN com suplementação de 800 mg/kg de colina; CN+0,06%Betaína - ração CN com suplementação de 400 mg/kg de colina e 600 mg/kg de betaína; CN+0,08%Betaína - ração CN com suplementação de 200 mg/kg de colina e 800 mg/kg de betaína; CN+0,12%Betaína - ração CN com suplementação de 1200 mg/kg de betaína. Os resultados foram submetidos à análise de variância com as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Constatou-se que as diferentes suplementações de metionina, colina e betaína afetaram as variáveis de desempenho estudadas. As aves do tratamento dieta CN+0,06%Betaína consumiram menor quantidade de ração em relação aos demais. Com relação à produção, peso médio e massa dos ovos, assim como a conversão por massa e por dúzia de ovos, as aves alimentadas com a dieta CN+0,06%Betaína mostrou-se melhor em relação às demais em que houve suplementação. Para a qualidade de ovos, foram detectadas diferenças para os pesos de albúmen, gema e casca. O peso de albúmen foi maior nos ovos das aves do tratamento CN+0,06% Betaína. Os maiores peso da gema e casca foram obtidos para as aves que consumiram CN+Colina em suas dietas. As variáveis bioquímicas do sangue não foram afetadas pelos tratamentos. Dessa forma, conclui-se que 600 mg/kg em combinação 400mg/kg de colina em rações com redução de metionina suplementar melhora o desempenho e os componentes internos dos ovos.

Palavras-chave: Aminoácidos sulfurados; Bioquímica sérica; Homocisteína; Peso de albúmen; Radicais metil; Remetilação.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the performance, the egg quality and the seric Biochemistry of commercial laying hens fed with different supplementations diets to Methionine, Choline and Betaine. In this experiment, were used 216 Dekalb White

linage chickens with 24 weeks of age), by a period of 112 days divided in four 28 days cycles. The treatments were distributed in a totally randomized design, composed by 6 treatments, 6 repetitions and 6 birds. The experimental diets were: Positive Control (PC) – ration that attend the recommendations to laying phase; Negative Control (NC) – ration with Methionine level reduction without Methionine, Choline and Betaine supplementation; Negative Control plus Choline (NC+Choline) – NC ration with 800 mg/kg Choline supplementation; Negative Control plus 0.06% of Betaine (NC+0.06%Betaine) – Negative Control ration with 400 mg/kg Choline and 600 mg/kg supplementations; Negative Control plus 0.08%Betaine (NC+0.08%Betaine) – NC ration with 200 mg/kg Choline and 800 mg/kg Betaine supplementations; Negative Control plus 0.12% Betaine (NC+0.12%Betaine) – NC ration with 1,200 mg/kg Betaine supplementation. The results were analyzed by variance and the averages compared by Tukey test ($p < 0.05$). Was constated that the different supplementations of Methionine, Choline and Betaine affected the performance variables studied. The chickens of NC+0.06%Betaine consumed less ration than the birds of the other treatments. In relation with production, egg weight average, egg mass, conversion per egg mass and too per dozen, the animals fed with NC+0.06%Betaine showed better results than others treatments. For the egg quality, were observed significant differences to albumen weight, yolk and egg shell. The albumen weight was better to NC+0.06%Betaine treatment. The biggest yolk weight and shell were related to NC+Choline treatment. The blood Biochemistry variables didn't affect by anyone treatment. Concluded which 600 mg/kg combined with 400 mg/kg Choline in ration with Methionine reduction supplement improve the performance and the inside egg components.

Key-words: Sulfurases Amino Acid, Seric Biochemistry, Homocisteine, Albumen weight, Metil Radicals, Remetilation.

INTRODUÇÃO

Em rações à base de milho e farelo de soja, a metionina tornou-se o primeiro aminoácido limitante em rações para aves, devido à composição destes ingredientes não atenderem integralmente às exigências de metionina e aminoácidos sulfurados, podendo

comprometer características produtivas. Normalmente, esta deficiência pode ser corrigida com a utilização de metionina sintética.

A metionina desempenha um papel crucial na síntese de proteínas corporais, sendo essencial à síntese proteica nos músculos e penas, assim como outros processos bioquímicos, em que participa como doador de grupos metil (YANG et al., 2017).

No entanto, com a modernização das empresas avícolas e o aumento no consumo por outras espécies, como suínos e peixes, os fabricantes de metionina industrial vêm sendo pressionados a operar no máximo de sua capacidade produtiva (SOLITÃO, 2015), sendo necessário cada vez mais utilizar insumos tecnológicos como forma de reduzir a inclusão de metionina em rações de aves.

A colina e a betaína são exemplos de nutrientes encontrados nos ingredientes que também são responsáveis pelo fornecimento de grupos metil para o metabolismo, e por isso, podem ser uma boa alternativa na redução dos custos de produção por reduzir os níveis de inclusão de DL-metionina, proporcionando desempenho semelhante às rações convencionais.

A colina apresenta em sua molécula três radicais metilados, cuja finalidade é atuar como fonte destes substratos para reações de metilação. A betaína, em função da sua estrutura química e seus radicais quimicamente ativos, participa de reações catalisadas por enzimas como fonte de grupos metil em reações de metilação e pode ser sintetizada pela colina na mitocôndria (EKLUND, 2005).

A melhora no desempenho produtivo com a suplementação de betaína pode ser atribuída a algumas razões, por exemplo, a doação de grupo metil e suas propriedades osmoprotetoras que melhoram o ambiente intestinal e, assim, melhoram a capacidade de absorção dos nutrientes (KETTUNEN et al., 2001; RATRIYANTO et al., 2009; MAHMOUDNIA; MADANI, 2012).

Esta forma de atuação da betaína supõe economia de energia de manutenção para os animais e uma menor necessidade de doadores de grupos metil, como a metionina e a colina (RIBEIRO et al., 2015).

Assim, objetivou-se com o presente estudo avaliar o desempenho, qualidade de ovos e os componentes bioquímicos do sangue de galinhas poedeiras alimentadas com dietas apresentado diferentes suplementações de metionina, colina e betaína.

MATERIAL E MÉTODOS

Local, instalações, período experimental e manejo das aves

O experimento foi realizado no Laboratório de Pesquisa com Aves – LAPAVE pertencente ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, num período de 112 dias, dividido em quatro períodos de 28 dias. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da mesma instituição conforme o processo 114/2015.

Foram utilizadas 216 poedeiras leves da linhagem Dekalb White com idade de 24 semanas, peso inicial de $1,430 \pm 0,07$ kg e uma produção média de 93,9%. As aves foram alojadas em galpão de alvenaria com cobertura de telha fibrocimento e as gaiolas equipadas com comedouros calha e bebedouro tipo copo, e dimensões de 0,33 x 0,40 x 0,45cm em uma densidade média de 500 cm²/ave alojada. O fotoperíodo utilizado foi de 17 horas de luz (natural + artificial). A ração e a água foram fornecidas à vontade. A temperatura e a umidade relativa do ar foram registradas por meio de termo-higrômetros, sendo verificadas médias de 27,9° e 79% para temperatura e umidade respectivamente.

Delineamento experimental e tratamentos

O delineamento utilizado no experimento foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos, seis repetições e seis aves por unidade experimental. Os tratamentos experimentais foram constituídos por níveis de suplementação de betaína e colina em dietas apresentando níveis reduzidos de metionina+cistina digestível (met+cis dig). Os tratamentos foram: controle positivo (CN) - ração atendendo às recomendações para a fase de postura; controle negativo (CN) - ração com redução dos níveis de metionina sem a suplementação da metionina, colina e betaína; CN+Colina - ração CN com suplementação de 800 mg/kg de colina; CN+0,06%Betaína - ração CN com suplementação de 400 mg/kg de colina e 600 mg/kg de betaína; CN+0,08%Betaína - ração CN com suplementação de 200 mg/kg de colina e 800 mg/kg de betaína; CN+0,12%Betaína - ração CN com suplementação de 1200 mg/kg de betaína.

A fonte de betaína utilizada foi de natureza sintética (Betaine HCl 95%) com 95% de grau de pureza e níveis de garantia de 720 g/kg de produto. Todas as rações foram formuladas para atender às exigências em energia, proteína, cálcio, fósforo e aminoácidos do manual de manejo da linhagem, exceto para colina, que foram baseadas nas recomendações de Harms e Russel (2002). A dieta controle positivo foi suplementada com 800 mg cloreto de colina 60% para fornecer 1500 mg/kg de colina por kg de ração. Nas dietas em que houve substituição da betaína HCl 95% por cloreto de colina 60%, a suplementação ocorreu com base na estrutura molecular de cada um dos ingredientes. A composição alimentar e nutricional das rações das galinhas poedeiras em fase de produção de ovos estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Composição centesimal das dietas e níveis nutricionais das rações experimentais para poedeira comerciais leves com 24 semanas de idade.

Ingredientes	Tratamentos					
	Controle Positivo	Controle Negativo	CN+Colina	CN+0,06% Betaína	CN+0,08% Betaína	CN+0,12% Betaína

Milho Moído	62,32	62,41	62,25	62,25	62,25	62,15
Farelo de Soja 46 %/80%	25,13	25,2	25,23	25,23	25,23	25,23
Óleo de Soja	1,05	1,04	1,09	1,09	1,09	1,09
Calcário Calcítico 37%	9,95	9,95	9,95	9,95	9,95	9,95
Fosfato Bicálcico 24/18,5%	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Sal Refinado	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29
Bicarbonato de Sódio	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
DL-Metionina 99%	0,15	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Cloreto de Colina 60%	0,08	0,00	0,08	0,04	0,02	0,00
Betaína HCl 95%	0,00	0,00	0,00	0,06	0,08	0,12
Fitase	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Premix. Vit./ Mineral	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Total	100	100	100	100	100	100

Composição nutricional calculada

Energia Metabolizável, kcal/kg	2800	2800	2800	2800	2800	2800
Proteína Bruta, %	16,5	16,5	16,5	16,5	16,5	16,5
Cálcio, %	4,10	4,10	4,10	4,10	4,10	4,10
Fósforo disponível, %	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Lisina digestível, %	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77	0,77
Metionina digestível, %	0,39	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31
Met+Cis digestível, %	0,62	0,54	0,54	0,54	0,54	0,54
Colina, Mg/kg	1500	1091	1500	1091	1091	1091
Sódio, %	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Bal. Eletrolítico, MEq/kg	201,0	201,0	201,0	201,0	201,0	201,0

Níveis de garantia por kg de produto: vit.A 9.000.000,00UI, vit.D3 2.500.000,00 UI, vit.E: 20.000,00 UI, Vit.K3 2.500 mg, vit.B1 2.000 mg Vit.B2 6.000 mg, Vit.B6 3.000 mg, vit.B12 15.000 µg, ácido fólico 1.500 mg ácido pantotênico 12 g, Biotina 60 mg, Manganês 32500mg, Zinco 50000mg, Ferro 20000mg, Cobre 4000mg, Iodo 1500mg, Selênio 250mg, Cobalto 200mg, Antioxidante 100000mg, Veículo Q.S.P. 1000g.

Desempenho

O percentual de produção e o peso médio dos ovos foram determinados ao final da coleta destes, que, por sua vez, era realizada duas vezes ao dia: às 9h00 e 15h00. Os valores da massa de ovos foram obtidos pela fórmula: $MO \text{ (g/ave/dia)} = \text{Postura (\%)} \times \text{Peso do ovo (g)}/100$.

Semanalmente, as sobras de ração contida nos comedouros e baldes de armazenamento foram recolhidas para serem pesadas e assim realizar os cálculos do consumo de ração e conversão alimentar. A conversão por massa (g de ração /g de ovo) foi calculada pela relação entre o consumo de ração e a massa de ovos produzida, e a conversão por dúzia de ovos (kg de ração/dúzia de ovos), calculada por meio da relação entre o consumo de ração e a quantidade de dúzias de ovos produzida, corrigida pelo percentual de postura.

Qualidade dos Ovos

A avaliação dos índices qualitativos dos ovos foi realizada nos três últimos dias antes do encerramento de cada ciclo, sendo utilizados três ovos por unidade experimental. Os ovos devidamente identificados foram conduzidos ao laboratório para pesagem individual em balança analítica de precisão 0,01g, para serem quebrados e realizadas a separação manual da gema do albúmen.

As análises realizadas foram: altura do albúmen (mm), pesos da gema, albúmen e da casca (g) e Unidade Haugh (UH). As cascas identificadas foram lavadas para retirada total do albúmen e colocadas estufas de ventilação forçada a uma temperatura de 55° C por 24 horas, procedendo, posteriormente, a pesagem em balança eletrônica de precisão.

Com os pesos da gema e casca, por diferença obteve-se o peso do albúmen e, em seguida, calculou-se o percentual das partes (gema, casca e albúmen) em relação ao peso do ovo. Para obter-se a Unidade Haugh utilizou-se a equação descrita por Card e Nesheim (1966): $UH = 100 \log (H+7,57-1,7W0,37)$, onde H é a altura do albúmen (mm) e W é o peso do ovo (g).

Coleta de amostras de sangue e componentes séricos

Os componentes séricos foram obtidos ao final do último período experimental, sendo utilizadas duas aves por repetição. Coletou-se o sangue por meio de punção na asa em tubos a vácuo sem anticoagulante numa quantidade de aproximadamente 5 mL, e posteriormente colocados em temperatura ambiente para obtenção do soro sanguíneo. Após este procedimento, transferiu-se o material com auxílio de uma micropipeta com

ponteiras descartáveis para eppendorfs de 2 mL, devidamente identificados para serem estocados a -20°C, e posteriormente realizar as análises das concentrações séricas de ácido úrico (mg/dl), albumina (g/dl) e creatinina (mg/dl).

As análises dos substratos bioquímicos foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal – BLOPA localizado no Departamento de Zootecnia, pertencente a UFRPE, por meio de analisador semiautomático Modelo D-250® e kits sorológico de quantificação da marca empresarial Doles, respectivamente, seguindo os protocolos descritos pelo fabricante.

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas por meio do software Sistema de Análises de Variância para dados balanceados (SISVAR), descrito por FERREIRA (2000), sendo os resultados submetidos à análise de variância e, quando houve diferença significativa, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS

Desempenho

Conforme pode ser observado na Tabela 2, todas as variáveis de desempenho estudadas apresentaram efeito dos tratamentos evidenciando o efeito da suplementação da betaína.

Tabela 2. Médias de desempenho produtivo de poedeiras de 24 semanas de idade alimentadas com rações apresentando diferentes relações de betaína, colina e metionina digestível.

Variáveis	Tratamentos						P (Valor)	CV (%)
	Controle Positivo	Controle Negativo	CN+Colina	CN+0,06% Betaína	CN+0,08% Betaína	CN+0,12% Betaína		
Consumo de ração (g/ave/dia)	108,97 ^b	100,47 ^{ab}	100,42 ^a	100,35 ^a	101,60 ^{ab}	106,50 ^{ab}	0,014	3,81
Produção de ovos, (%)	89,98 ^{ab}	88,87 ^{ab}	89,86 ^{ab}	93,36 ^a	91,57 ^{ab}	87,52 ^b	0,035	2,78
Peso dos ovos (g)	61,02 ^a	58,02 ^b	59,84 ^{ab}	60,69 ^a	59,65 ^{ab}	59,66 ^{ab}	0,012	1,89
Massa de ovos (g/ave/dia)	54,91 ^a	51,56 ^b	53,77 ^{ab}	56,66 ^a	54,62 ^{ab}	52,21 ^b	0,012	3,35
Conversão por massa, (g/g de ovos)	1,98 ^a	1,95 ^{ab}	1,87 ^b	1,77 ^b	1,86 ^b	2,04 ^a	0,001	4,07
Conversão por dúzia, (kg/dz de ovos)	1,48 ^a	1,35 ^{abc}	1,34 ^{ab}	1,29 ^c	1,33 ^{ab}	1,46 ^{ab}	0,018	4,59

CN - controle negativo; P - valores associados ao teste F da análise de variância; CV - coeficiente de variação.

Com exceção do tratamento CN+0,12%Betaína, a redução dos níveis de metionina+cisteína digestível das dietas promoveu diminuição do consumo de ração. Com relação à produção de ovos, as aves alimentadas com a dieta CN+0,06% Betaína, demonstraram melhora em 5,67% em relação às aves do CP, superando também os 92,7% de taxa de postura estabelecida pela tabela de desempenho do guia de manejo da linhagem.

Os níveis de suplementação de betaína e colina nas dietas com metionina reduzida influenciaram o peso dos ovos, a massa de ovos e a conversão alimentar por massa de ovos. As aves do tratamento CN tiveram uma redução média de 3g sobre o peso dos ovos. Da mesma forma, a massa de ovos foi reduzida em 11% com controle negativo e, com a adição de 600 e 800 mg/kg de betaina elevou-se a quantidade de g de ração por g de ovo produzida em 5,1% e 1,6%. Os efeitos dos tratamentos sobre a produção e o peso dos ovos refletiram sobre a conversão alimentar, tanto por massa quanto por dúzia de ovos produzida que, por sua vez, foram elevadas com a redução do percentual de met+cis dig da dieta.

Considerando o ajuste dos resultados por meio de análise de variância da regressão, as variáveis de produção e massa de ovos proporcionaram respostas mais adequadas para o modelo polinomial quadrático, cuja estimativa do nível ótimo de inclusão de betaína foi de aproximadamente 0,6%, conforme pode ser observado nas Figuras 1 e 2.

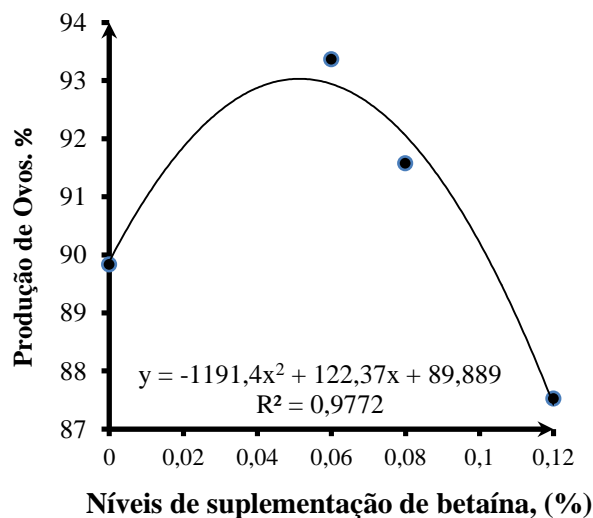


Figura 1. Efeito dos diferentes níveis de suplementação de betaína em substituição total por cloreto de colina (%) sobre a produção de ovos em dietas de galinhas poedeiras com redução dos níveis de metionina+cisteína digestível.

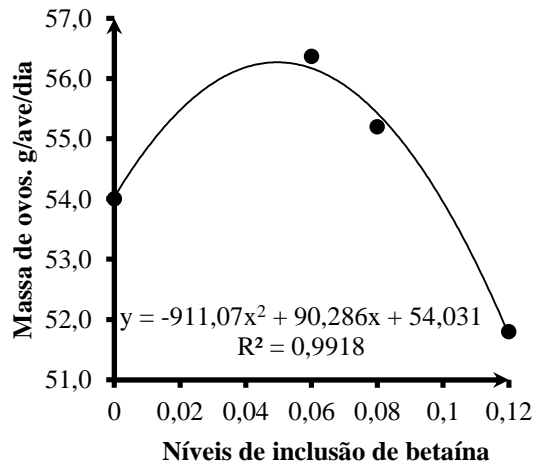


Figura 2. Efeito dos diferentes níveis de suplementação de betaína em substituição total por cloreto de colina (%) sobre a produção de ovos em dietas de galinhas poedeiras com redução do teor de metionina+cisteína digestível.

Qualidade dos ovos

Na Tabela 3 podem ser observados os percentuais das partes (gema, casca e albúmen) e também a Unidade Haugh dos ovos. Com relação aos pesos absolutos da casca, da gema e albúmen houve influência das dietas experimentais, em que tanto o peso do albúmen quanto os pesos de casca e gema apresentaram diminuição com a dieta controle negativo. Entretanto, a inclusão de 600 mg e 800 mg/kg de betaína em combinação com 400 e 200 mg/kg de colina aumentaram o peso do albúmen.

Tabela 3. Médias da avaliação da qualidade dos ovos de poedeiras com 24 semanas de idade alimentadas com rações apresentando diferentes relações de betaína, colina e metionina digestível.

Variáveis	Tratamentos						P (Valor)	CV (%)
	Controle Positivo	Controle Negativo	CN+Colina	CN+0,06% Betaína	CN+0,08% Betaína	CN+0,12% Betaína		
Peso de Albúmen, (g)	38,71 ^{ab}	38,24 ^b	38,01 ^b	39,60 ^a	38,88 ^{ab}	38,86 ^{ab}	0,02	1,52
Peso da Gema, (g)	15,82 ^a	14,43 ^b	15,64 ^a	15,40 ^{ab}	15,06 ^{ab}	15,24 ^{ab}	0,015	3,08
Peso de Casca, (g)	5,81 ^a	5,51 ^b	5,72 ^a	5,68 ^{ab}	5,64 ^{ab}	5,78 ^a	0,001	1,43
Unidade Haugh	86,7	87,13	86,09	87,78	86,44	86,97	0,35	1,24
Percentagem de Albúmen, (%)	64,68	65,82	64,3	65,18	65,24	64,72	0,14	1,19
Percentagem de Gema, (%)	25,72	24,66	26,12	25,42	25,26	25,57	0,13	2,75
Percentagem de Casca, (%)	9,52	9,44	9,59	9,38	9,7	9,62	0,19	1,51

CN - controle negativo; P - valores associados ao teste F da análise de variância; CV - coeficiente de variação.

Com relação ao peso das gemas, as aves alimentadas com a dieta CN+Colina apresentaram maiores valores em relação às demais aves suplementadas com betaína e colina. Para os pesos de casca, os tratamentos com maiores médias foram o CP e as dietas CN+Colina e CN+0,12%Betaína, em que há apenas suplementação de colina ou betaína, respectivamente. Contudo, a Figura 3 demonstra que o ponto de máxima observado pelos ajustes dos resultados ao modelo de regressão polinomial quadrático, foi de 0,07% de betaína para o peso do albúmen, no entanto, este nível mostrou comportamento semelhante a dieta referência para o peso de gema e casca.

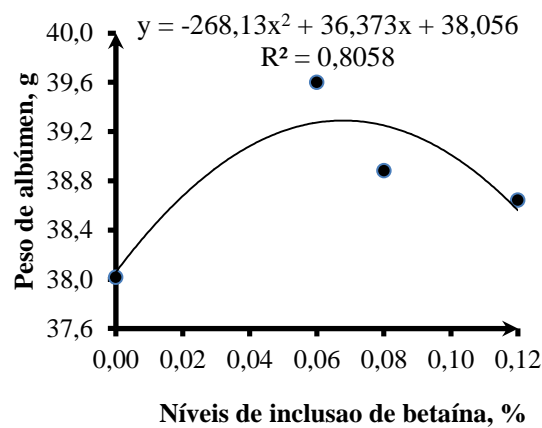


Figura 3. Efeito das suplementações de metionina, colina e betaína sobre o peso de albúmen em dietas de galinhas poedeiras.

Bioquímica sérica

Com relação aos componentes bioquímicos sanguíneos não foi constatada diferença entre os tratamentos para as concentrações séricas de ácido úrico, albumina, creatinina, de forma que provassem o efeito benéfico da suplementação da betaína, conforme pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos sanguíneos de poedeiras comerciais com 24 a 40 semanas de idade alimentadas com rações com diferentes relações de betaína, colina e metionina digestível.

Tratamentos	Controle Positivo	Controle Negativo	CN+Colina	CN+0,06% Betaína	CN+0,08% Betaína	CN+0,12% Betaína	P	CV (%)
Albumina (g/dl)	3,24	3,41	3,38	3,09	3,75	3,21	0,314	14,8
Ácido Úrico (g/dl)	2,83	2,61	2,99	2,64	3,45	3,39	0,264	25,17
Creatinina (g/dl)	0,21	0,21	0,19	0,2	0,19	0,16	0,339	22,82

CN - controle negativo; P - valores associados ao teste F da análise de variância; CV - coeficiente de variação

DISCUSSÕES

A pesquisa demonstra que a combinação adequada entre metionina, colina e betaína, além de reduzir a inclusão de DL-Metionina em dietas de galinhas poedeiras, melhorou o desempenho das aves, confirmando a hipótese adotada de que o conhecimento da suplementação de componentes doadores de radicais metil em rações com redução de metionina suplementar melhora o direcionamento do uso deste aminoácido para produção e crescimento das aves.

No presente estudo, a proposição do experimento tem a função de estabelecer o limite de redução de metionina e ao mesmo tempo, implementar a adequada combinação entre colina e betaína para que o desempenho seja modulado em restaurar o uso de níveis decrescente de metionina. Neste contexto, o comportamento das aves alimentadas pelo tratamento CN+0,06%Betaína indica que a maior eficiência sobre a percentagem de postura e peso dos ovos, proporcionando aumento na massa de ovos e melhora sobre a conversão alimentar, aponta que os efeitos da adição destes insumos tecnológicos foram suficientemente eficaz para repor a perda de desempenho animal.

Por outro lado, analisando sob o ponto de vista inverso, quando foi utilizada apenas betaína suplementar ou betaína e colina simultaneamente de forma on top., como foi caso das aves alimentadas pela dieta controle positivo, observou-se redução sobre o percentual de postura, massa de ovos e conversão alimentar. Mas, quando se avaliou a

adição destas tecnologias de forma equilibradas, verificou-se a tendência distinta daquela observada nas dietas sem a combinação destes nutrientes.

Tanto a betaína quanto a colina estão diretamente envolvidas no ciclo da metionina, uma importante reação fisiológica que envolve o retorno da homocisteína em metionina pela ação de enzimas como a metionina sintase e betaína-homocisteína-metil-transferase (BHMT). Estas enzimas disponibilizam um grupo metil que é incorporado à homocisteína, a qual retorna ao produto original do ciclo, a metionina. A betaína, por sua vez, reage com a homocisteína pela enzima por intermédio da enzima BHMT, e a colina, além de formar a betaína como componente intermediário do seu metabolismo, atua em algumas funções específicas como transporte de lipídios pelos fosfolipídios, evitando o acúmulo de gordura no fígado (MCDOWELL, 1989).

Dessa forma, é importante enfatizar que a betaína e a colina podem atuar em sinergismo reduzindo parcialmente a suplementação de metionina na dieta; porém, a substituição da betaína pela colina não proporciona o desempenho normal das aves. E, de acordo com o que foi mencionado, o presente estudo demonstra que é possível fazer a suplementar parcialmente a metionina por betaína e colina numa relação de 50% para ambas moléculas, desde que seja considerada a diferença de base equimolar entre elas.

A substituição da betaína por colina no tratamento CN+0,12%Betaína demonstrou de fato que a substituição da colina pela betaína compromete o desempenho das aves, mas quando ocorre a combinação adequadas entre estas moléculas observa-se que houve melhora na conversão alimentar.

Zou e Lu (2002) concluíram que o uso de betaína nas dietas de galinhas poedeiras pode aumentar a síntese do hormônio luteinizante, hormônio folículo estimulante, triiodotironina, tiroxina, estradiol e progesterona. Por outro lado, Xing e Jiang (2012) reportam que o aumento linear na produção de ovos de galinhas poedeiras suplementadas com 800 mg/kg de betaína pode estar relacionado à maior expressão do mRNA da enzima FAS (fatty acid synthase) nos adipócitos abdominais das galinhas. Tal fato pode justificar os maiores percentuais de postura e peso de ovos observados para aves que foram suplementadas com 600 e 400 mg/kg de betaína e colina, respectivamente.

Os resultados desta pesquisa ainda indicam que a suplementação de colina não pode ser completamente substituída pela inclusão de betaína na dieta, como demonstra

os resultados de peso e massa de ovos do CN+0,12%Betaína, pois a participação da colina na síntese de compostos que estão envolvidos na absorção e transporte de gorduras do fígado, além de sua atuação como precursor da acetilcolina, um importante neurotransmissor, permite que a sua adição nas rações nutrieute melhore a produção de em função do aumento de lipoproteínas transportadoras no organismo (JAHANIAN; RAHMANI, 2008).

Para as medidas dos componentes internos do ovo, o efeito observado sobre o peso de albúmen, gema e casca pode estar condizente com as diferenças detectadas no peso médio dos ovos. Neste caso, observou-se que o CN+0,06%Betaína promoveu maior peso albúmen sem influenciar as características de peso de gema e casca em função do maior peso de ovo. Por outro lado, o CN proporcionou menores índices das partes internas devido ao menor peso de ovo observado. Segundo Zhan et al. (2006), o aumento do peso dos ovos pode estar associado à habilidade do doador de metila que a betaína apresenta, o que pouparia a metionina dessa função e aumentaria seu uso na síntese proteica.

O CN+Colina não influenciou o peso dos ovos, mas promoveu maiores valores para o peso da gema e casca. O CN+0,12% Betaína apesar de elevar o peso da casca, juntamente com o CN+0,08% não foram suficientes para afetar as demais variáveis de qualidade. Omara (2012), utilizando poedeiras leves com 27 semanas de idade, verificou que a suplementação 800 a 1600 mg/kg de colina em dietas com níveis de 0,54% de metionina+cisteína digestíveis não influenciaram os pesos, mas melhoram a qualidade dos constituintes internos dos ovos, corroborando os dados obtidos neste trabalho.

Da mesma forma, Hruby et al. (2005), ao substituírem o cloreto de colina ao nível de 400 mg/kg e reduzir 10% da metionina suplementar, reportam que não influencia os percentuais de casca e gema dos ovos.

Leeson e Summers (2005) reportam que além da metionina interferir diretamente sobre o tamanho dos ovos, os níveis de metionina digestível ainda podem estar estreitamente relacionados ao teor de fosfolípidos necessários para formação gema dos ovos. Sendo assim, a suplementação de betaína como forma de compensar parcialmente a DL-metionina e reduzir a necessidade de cloreto de colina pode ter otimizado o uso da metionina para síntese proteica e elevado a eficiência deste nutriente

em fornecer grupamentos metil para cumprir essa função na ração (POOSUWAN et al., 2006).

Com relação à bioquímica sérica, as suplementações de metionina, colina e betaína não exerceram influência sobre as variáveis analisadas. Porém, poucos trabalhos têm relacionado a nutrição de galinhas poedeiras com estes parâmetros séricos, embora a necessidade de manter o bem estar desses animais leve à necessidade do conhecimento de valores bioquímicos de referência, visando a uma melhor avaliação do estado fisiológico dessas aves (KRÁL; SUCHÝ, 2000).

O sangue representa um importante índice de estado fisiológico, patológico e nutricional do organismo (EL-SHINNAWY, 2015). Segundo Benez (2004), a faixa normal de ácido úrico é de 2-15mg/dL, estando semelhante aos valores das aves deste experimento. De acordo com Kaneko et al. (2008), a grande diferença nos níveis de ácido úrico observada entre diversos autores pode estar associada à dieta, ao estado de hidratação das aves e a espécie. Park et al. (2005), em experimentos com galinhas, concluíram que a inclusão de 600 g/ton em dietas com níveis de 14,5% de proteína bruta não afeta a produção de ovos eleva as concentrações plasmáticas de ácido úrico nas aves.

A média das concentrações de albumina analisadas neste ensaio variou de 3,09 a 3,75 g/dl, sendo superiores aos níveis de 2,52-2,76 g/dl encontrados por Soares et al. (2016), trabalhando com poedeiras de mesma linhagem alimentadas com diferentes níveis de metionina+cisteína digestíveis. Os teores de albumina sérica normais variaram de 0,8 a 2,0 g/dl, porém as concentrações plasmáticas podem ser afetadas em função da produção de ovos, uma vez que albumina são proteínas precursoras da gema (vitelogenina e lipoproteínas), sintetizadas no fígado que são transportadas para o ovário, onde são incorporadas aos oócitos (SCHMIT et al., 2007).

Para a atividade de creatinina, o intervalo dos resultados mostrou-se entre 0,16-0,21 g/dl. A creatinina proveniente da degradação da creatina é eliminada do sangue para a urina de forma eficiente, e, por isto, suas frações no soro encontram-se em média de 0,1 a 0,4 mg/dl. A eliminação renal da creatinina varia levemente com a idade, raça e gênero, de forma que a correção do cálculo por esses fatores produz uma medida mais sensível da extensão da função renal: a taxa de filtração glomerular (NELSON; COX, 2014).

CONCLUSÃO

A inclusão de betaína ao nível de 600 mg/kg em combinação 400mg/kg de colina em rações de metionina suplementar melhora os parâmetros de desempenho produtivo, assim como constituintes internos dos ovos, sem afetar a saúde das aves.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EKLUND, M.; BAUER, E.; WAMATU, J.; MONSENTHIN, R. Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock, **Nutrition Research Review**, v,18, n,1, p,31-48, 2005.

FERREIRA, D. F. SISVAR: pacote computacional, Manual do sistema SISVAR para análises estatísticas, Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2000, 66 p.

HARMS, R. H.; RUSSELL, G. B. Betaine Does Not Improve Performance of Laying Hens when the Diet Contains Adequate Choline, **Poultry Science**, v. 81, p.99–101, 2002.

HRUBY, M.; OMBABI, A.; SCHLAGHECK, A. Natural betaine maintains layer performance in methionine/choline chloride reduced diets, **XV European Symposium on Poultry Nutrition – Conference Proceedings**, Balaton füred - Hungary, p. 507-508, 2005.

JAHANIAN, R.; RAHMANI, H.R. The effect of dietary fat level on the response of broiler chicks to betaine and choline supplements, **Journal Biology Science**, v,8, p. 362-367, 2008.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical biochemistry of domestic animals, 6, ed, New York: Academic Press, 2008, 896 p.

KETTUNEN, H.; PEURANEN, S.; TIIHONEN, K. Betaine aids in the osmoregulation of duodenal epithelium of broiler chicks, and affects the movement of water across the small intestinal epithelium in vitro, **Comparative Biochemistry and Physiology – Part A**, v,129, p,595-603, 2001.

KRÁL, I, SUCHÝ, P. Haematological studies in adolescent breeding cocks, **Acta Veterinaria Brunensis**, v, 69, n,3, p,189-194, 2000.

LEESON, S.; SUMMERS, J. D.; SCOTT, M. L. **Nutrition of the chickens**, 4. ed, Guelph: University Books, 2005, 591p.

MAHMOUDNIA, N.; MADANI, Y. Effect of Betaine on performance and carcass composition of broiler chicken in warm weather - A review. **International Journal of AgriScience**, v,2, p,675-683, 2012.

MCDEVITT, R.M.; MACK, S.; WALLIS, I.R. Can betaine partially replace or enhance the effect of methionine by improving broiler growth and carcass characteristics? **British Poultry Science**, v,4, p,473-480, 2000.

MCDOWELL, L.R. **Vitamins in animal nutrition**: comparative aspects to human nutrition. San Diego, California: Academic Press, 1989.

MENENDEZ, J.A.; LUPU, R. Fatty acid synthase and the lipogenic phenotype in cancer pathogenesis, **Nature Review Cancer**, v,7, p,763-777, 2007.

NELSON, D. L.; COX, M.M. **Principios de bioquímica de Lehninger**, Porto Alegre: Artmed, 2014.

OMARA, I. I. Protein-sparing effect of DL-Methionine and choline supplementation of low-protein diets on productivity in laying hens, Egyptian, **Journal Animal Production**, v,49, p,219-231, 2012.

PARK, J.H.; PARK, S.Y.; RYU, K.S. Effects of dietary betaine and protein levels on performance, blood composition, abdominal fat and liver amino acid concentration in laying hens, **Korean Journal of Poultry Science**, v,32, p,157-163, 2005.

POOSUWAN, P.; BUNCHASAK, C.; MARKVICHITR, K.; NUKRAEW, R. Effect of methionine levels on production performance, triglyceride and non-esterified fatty acid in laying hens, **Warasan Songkhla Nakharin**, v,28, p,71-77, 2006.

RATRIYANTO, A.; MOSENTHIN, R.; BAUER, E.; EKLUND, M. Metabolic, osmoregulatory and nutritional functions of betaine in monogastric animals, **Asian - Australasian Journal of Animal Science**, v,22, p,1461 – 1476, 2009.

RIBEIRO, P.R.; KRONKA; R.N. THOMAZ; M.C.; HANNAS; M.I.; TUCCI; F.M. SCANDOLERA; A.J.; BUDIÑO, F.E.M.. Diferentes níveis de betaína sobre incidência de diarreia, desempenho, características de carcaça e parâmetros sanguíneos de suínos, **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.48, n.4, p.299-306, 2011.

SCHMIDT, E. M. S.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SANTIN, E.; PAULILLO, A. C. Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade AVÍCOLA – REVISÃO - **Archives of Veterinary Science** , v 12, n,3, p. 9-20, 2007.

SOARES, M. N.; PINHEIRO, S. G.; CAVALCANTE; L.E.; DANTAS; L. S.; COSTA, F. G. P. **Relação entre energia metabolizável e aminoácidos sulfurosos sobre o perfil bioquímico sérico de poedeiras na fase de produção de 24 a 44 semanas**. In: I Congresso Internacional do Semi-Árido – CONID- 2016 – Disponível em: http://www.editorarealize.com.br/revistas/conidis/trabalhos/trabalho_ev064_md4_sa3_id876_24102016234845.pdf

SOLITÃO, R. (Dir.) **Metionina**: Perspectivas para o mercado em 2015. Adisseo América do Sul, 2015, Informe Técnico-Empresarial.

XING, J.; LIANG, Y. Effect of dietary betaine supplementation on mRNA level of lipogenesis genes and on promoter CpG methylation of fatty acid synthase (FAS) gene in laying hens, **African Journal of Biotechnology**, v,11, n,24, p, 6633-6640, 2012.

YANG, Z.; WANG, Z.Y.; YANG, H.M.; XU, L.; GONG, D.Q. Effects of dietary methionine and betaine on slaughter performance, biochemical and enzymatic parameters in goose liver and hepatic composition. **Animal Feed Science and Technology**, v,228, p,48-58, 2017.

ZHAN, X. A. et al. Effects of methionine and betaine supplementation on growth performance, carcass composition and metabolism of lipids in male broilers. **British Poultry Science**, v.47, n.5, p.57-580, 2006.

ZOU, X.T.; LU, J.J. Effects of betaine on the regulation of the lipid metabolism in laying hen. **Agriculture Science China**, v,5, p,325-330, 2002.

CAPÍTULO 3

Suplementação de metionina, colina e betaína em dietas de codornas japonesas durante a fase de crescimento

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o desempenho e o desenvolvimento de órgãos do trato digestório de codornas japonesas alimentadas com dietas apresentando diferentes suplementações de metionina, colina e betaína durante a fase de crescimento, realizou-se um experimento utilizando 1200 codornas de um dia divididas em duas fases de criação: 1 a 21 e 22 a 35 dias. Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado, composto por seis tratamentos, seis repetições e seis aves por unidade experimental. Ambas as fases, o tratamento controle positivo foi formulado de acordo com as exigências nutricionais, e o controle negativo com redução de metionina suplementar. Os demais tratamentos na fase I foram: CN+Colina - ração CN com suplementação de 1100 mg/kg de colina; CN+0,08% Betaína - ração CN com suplementação de 600 mg/kg de colina e 800 mg/kg de betaína; CN+0,11% Betaína - ração CN com suplementação de 300 mg/kg de colina e 1100 mg/kg de betaína; CN+0,13% Betaína - ração CN com suplementação de 1300 mg/kg de betaína. Na fase II, as demais dietas foram formuladas seguindo os mesmos critérios de substituição parcial da metionina pela colina e betaína do experimento anterior. Os resultados foram submetidos à análise de variância e comparação das médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Observou-se que, aos 21 dias, as aves alimentadas com dietas CN+Colina e CN+0,13% Betaína demonstraram maior eficiência sobre os resultados de ganho de peso e eficiência alimentar. Aos 35 dias, o tratamento CN+Colina apresentou maior ganho de peso. Com relação ao peso absoluto e relativo dos órgãos, observou-se que a dieta CN reduziu o peso relativo dos órgãos avaliados, mas as dietas CN+Colina e CN+0,08% Betaína, proporcionaram melhora desenvolvimento do intestino e fígado das aves aos 21 dias. Aos 35 dias, apenas o peso absoluto e relativo do intestino, e peso relativo do fígado houve influência dos tratamentos, sendo o máximo de peso absoluto de intestino foi obtido na dieta CN+0,06% Betaína. Assim, aos 21 dias, recomenda-se a suplementação de 1100 mg/g colina ou de betaína ao nível de 1100 mg/kg com 300 mg/kg de colina. Aos 35 dias, o uso de 900 mg/kg de colina ou doses de betaína a partir de 600 mg/kg em dietas com redução de metionina suplementar, garantem o desempenho desenvolvimento das aves

Palavras-chave: Aminoácidos sulfurados; Conversão alimentar; Desempenho; Peso de órgãos; Reações de metilação; Trato digestivo.

ABSTRACT

With the aim to evaluate the performance and development of digestive tract organs of Japanese quails fed with diets of different relations between Betaine, Choline and Digestible Methionine during the grow phase, was applied a experiment with 1,200 quails divided in two phases: 1 to 21 days and 22 to 35 days. Was used a completely randomized design, composed by 6 treatments, 6 repetitions and 6 quails per experimental unit. In the both phases the Positive Control treatment was formulated in accord with the nutritional requirements and the Negative Control with Methionine supplement reduction. To the Phase I were planed the treatments: NC+Choline – ration with supplementation of 1,100 mg/kg of Choline; NC+0.08%Betaine – NC ration with 600 mg/kg Choline and 800 mg/kg Betaine; NC+0.11%Betaine – NC ration with 300 mg/kg Choline and 1.100 mg/kg Betaine supplementations; NC+0.13%Betaine – NC ration with 1,300 mg/kg Betaine supplementation. In the Phase II the treatments diets were formulated following the same criteria to partial substitution of Methionine by Choline and Betaine of the preview experiment. The results were submitted to variance analysis and Tukey test ($p<0.05$) to compare average. Was observed that at 21 days, the birds fed with NC+Choline and NC+0,13%Betaine showed better efficiency on the weight gain and feed efficiency. At 35 days, the treatment NC+Choline showed better weight gain. In relation to absolute and relative weights of organs was observed that NC diet reduce the relative weight of evaluated organs, but the NC+Cholina and NC+0.08%Betaine diets proportioned better liver and intestine development of birds at 21 days. At 35 days, only the absolute and relative weights of intestine and liver relative weight showed treatments influence with the NC+0.06%Betaine diet presented the most higher intestine weight. Thus at 21 days is recommended the use of 900 mg/kg of Choline or supplement Betaine in levels from 600 mg/kg I diets with Methionine reduction to guarantee the performance and development of the quails.

Key-words: Sulfurase Amino Acids, Feed Conversion, Performance, Organs Weight, Metil Reactions, Digestive Tract.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a criação de codornas destinadas tanto para a produção de ovos quanto para o abate deixou de ser considerada uma atividade de subsistência para ocupar um cenário de atividade altamente tecnicizada, em função da implementação de novas técnicas e tecnologias de produção (VELOSO et al., 2015). A codorna japonesa por exemplo, com os processos de seleção e melhoramento realizados principalmente pelos japoneses, possui altos índices de produtividade (80-95%), além do crescimento rápido, maturidade sexual precoce, alta taxa de produção de ovos e um intervalo de geração curto (HEMID et al., 2010).

No entanto, diferentemente de outras espécies de aves, a criação de codornas comerciais ainda necessita de informações mais específicas como o peso ideal para cada fase, requisitos nutricionais, gerenciamento de fotoperíodo e intensidade de luz e outros aspectos mais consistentes sobre a criação.

Assim como as rações de galinhas poedeiras e frangos de corte, as dietas de codornas também são baseadas em milho e farelo de soja, em que a metionina torna-se primeiro aminoácido limitante, devendo ser suplementada por meio de uma fonte industrial. A metionina é considerada um aminoácido essencial para o crescimento das aves. É utilizada como doadora de grupos metil em reações que envolvem diretamente a síntese proteica, como a deposição de músculos e penas (SIMON, 1999).

As fontes de metionina disponíveis no mercado possuem oscilações de preço principalmente pela desvalorização da moeda nacional frente ao câmbio internacional, porém seu uso é justificável por otimizar o metabolismo proteico, atuar no metabolismo de outras substâncias e melhorar a defesa imunológica. No entanto, a busca por outras substâncias alternativas com preços mais competitivos, como a colina e a betaína, podem otimizar o papel das fontes de metionina pelo fornecimento de grupos metil para o metabolismo.

Apesar da forte interação entre metionina, colina e betaína (PILLAI et al., 2006) apontam que as inter-relações entre esses nutrientes precisam ser mais exploradas em aves comerciais, principalmente sobre o processo de remetilação (reciclagem da metionina) hepática da homocisteína.

Com isso, objetivou-se com o presente estudo avaliar o desempenho e o desenvolvimento de órgãos do trato digestório de codornas japonesas alimentadas com

dietas contendo diferentes relações entre metionina, colina e betaína durante a fase de crescimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Local, instalações, manejo dos animais e programa de luz

A pesquisa foi aprovada pelo comitê de ética sobre o uso de animais - CEUA sob a licença de número: 23082,018513//2015. O experimento foi conduzido no Laboratório de digestibilidade de Não Ruminantes, pertencente ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, utilizando 1200 codornas japonesas fêmeas (*Coturnix coturnix coturnix*) da empresa de seleção genética Fujikura com um dia de idade e peso inicial médio de 8g. As aves foram alojadas em galpão de alvenaria com cobertura de telha fibrocimento e cortinas laterais. As codornas foram criadas em pinteiros de arame galvanizado com dimensões de 100 x 80 x 50 cm proporcionando uma densidade média de 320 cm²/ave alojada. Antes da chegada das aves, a temperatura no interior do galpão foi mantida entre 33 e 35° C.

Para o fornecimento de água utilizaram-se bebedouros tipo copo de pressão preenchidos com bolas de gude na parte interna, para reduzir a área de lâmina d'água e evitar mortes por afogamento. Ao final de 14 dias de idade das aves, os bebedouros foram substituídos por bebedouros tipo copinho.

Com relação ao fotoperíodo, adotaram-se as recomendações do Manual Fujikura (2016), sendo 24h de luz do 1° ao 20° dia, 18h do 21° ao 34° dia, e 17h do 35° em diante. Para manter a temperatura adequada como forma de evitar quadro de estresse por frio e surgimento de refugos, os aquecedores foram desligados somente no final da segunda semana de vida das aves.

A temperatura e a umidade relativa do ar ao longo do período experimental foram registradas por meio de termo higrômetros instalados no interior do galpão na altura da cabeça das aves, sendo verificadas médias de 29,0° e 64% para temperatura e umidade, respectivamente.

Período experimental, delineamento experimental e tratamentos

O período experimental foi dividido em duas fases de criação: Fase I (1 a 21) e Fase II (22 a 35), representando a fase inicial e crescimento, respectivamente. As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos, seis repetições e 25 aves/unidade experimental. Todos os tratamentos no período de 1 a 21 e 22 a 35 tiveram critérios em comum de formulação das dietas. Na fase de I, os tratamentos foram: controle positivo (CP) - ração atendendo às recomendações para a fase inicial seguindo as exigências de energia, proteína e aminoácidos de Rostagno et al. (2017); controle negativo (CN) - ração com redução dos níveis de metionina sem a suplementação da metionina, colina e betaína; CN+Colina - ração CN com suplementação de 1100 mg/kg de colina; CN+0,08% Betaína - ração CN com suplementação de 600 mg/kg de colina e 800 mg/kg de betaína; CN+0,11% Betaína - ração CN com suplementação de 300 mg/kg de colina e 1100 mg/kg de betaína; cn+0,13% betaína - ração CN com suplementação de 1300 mg/kg de betaína. Na Fase II, os tratamentos CP e CN seguiram os mesmos critérios de níveis de suplementação de betaína em substituição parcial e total à colina, sendo os outros quatro tratamentos constituindo-se da seguinte forma: CN+Colina – dieta CN com suplementação de 900 mg/kg ração de colina; CN+0,06% Betaína – dieta CN com 500 mg/kg de colina e 600 mg/kg de betaína; CN+0,08% Betaína – dieta CN com 300 mg/kg de colina e 800 mg/kg de betaína; CN+0,11% Betaína –dieta CN com suplementação de 1100 mg/kg de betaína. A composição alimentar e nutricional das rações para as fases inicial e de crescimento das codornas japonesas estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

A fonte de betaína utilizada foi de natureza sintética (Betaine HCl 95%) com 95% de pureza e níveis de garantia de 720 g/kg de produto.

Todas as rações foram formuladas para atender às exigências em energia, proteína, cálcio, fósforo e aminoácidos, exceto para colina, que foram baseadas nas recomendações de Alagawany et al. (2015). Nas dietas em que houve substituição da betaína HCl 95% por cloreto de colina, a suplementação ocorreu com base na estrutura molecular de cada um dos ingredientes.

Tabela 1. Composição centesimal dos ingredientes e níveis nutricionais das rações experimentais para codornas japonesas na Fase 1 a 21 dias de idade.

Ingredientes	Tratamentos					
	Controle Positivo	Controle Negativo	CN+Colina	CN+0,08% Betaína	CN+0,105% Betaína	CN+0,13% Betaína
Milho	57,85	57,83	57,83	57,83	57,83	57,83
Farelo de soja 45%	30,13	29,45	29,45	29,45	29,45	29,45
Óleo de soja	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Glúten 60%	5,90	6,46	6,46	6,46	6,46	6,46
Calcário calcítico 37%	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13
Fosfato bicálcico 18,5/24%	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Sal refinado	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Bicarbonato de sódio	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
DL-Metionina 99%	0,1	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
L-Lisina 78,8%	0,19	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Cloreto de colina 60%	0,10	0,00	0,11	0,06	0,03	0,00
Betaína HCL 72%	0,00	0,00	0,00	0,08	0,11	0,13
Premix Vitamínico	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Premix Mineral	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Phytase	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Inerte	1,94	2,25	2,14	2,12	2,12	2,12
Total	100	100	100	100	100	100
Composição nutricional calculada						
Energia Metabolizável, kcal/kg	2900	2900	2900	2900	2900	2900
Proteína Bruta, %	22,0	22,0	22,0	22,0	22,0	22,0
Cálcio, %	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02
Fósforo Disponível, %	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48
Sódio, %	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Lisina digestível, %	1,09	1,09	1,09	1,09	1,09	1,09
Metionina digestível, %	0,44	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Met+Cistina digestível, %	0,74	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
Treonina digestível, %	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
Colina, mg/kg	1760	1203	1760	1760	1760	1760
Bal, Eletrolítico, MEq/kg	190	190	190	190	190	190

Níveis de garantia por kg de produto: Vit,A 8000000UI, Vit,D3 2000000UI, Vit,E 15000mg, Vit,K3 1960mg, Vit,B2 4000mg, Vit,B6 1000mg, Niacina 19800mg, Ácido Pantotênico 5350mg, Ácido Fólico 200mg, Biotina -60mg, Manganês 32500mg, Zinco 50000mg, Ferro 20000mg, Cobre 4000mg, Iodo 1500mg, Selênio 250mg, Cobalto 200mg, Antioxidante 100000mg, Veículo Q,S,P, 1000g,

Tabela 2 Composição centesimal dos ingredientes e níveis nutricionais das rações experimentais para codornas japonesas na Fase 22 a 35 dias de idade

Ingredientes	Tratamentos					
	Controle Positivo	Controle Negativo	CN+Colina	CN+0,06% Betaína	CN+0,08% Betaína	CN+0,11% Betaína
Milho	61,94	62,00	62,00	62,00	62,00	62,00
Farelo de soja 45%	33,95	33,45	33,45	33,45	33,45	33,45
Óleo de soja	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Calcário calcítico 37%	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02	1,02
Fosfato bicálcico 18,5/24%	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21	1,21
Sal refinado	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34
Bicarbonato de sódio	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
DL-Metionina 99%	0,14	0,06	0,05	0,05	0,05	0,05
L-Lisina 78,8%	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
L-Treonina 98%	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Cloreto de colina 60%	0,09	0,00	0,09	0,05	0,03	0,00
Betaína HCL 72%	0,00	0,00	0,00	0,06	0,08	0,11
Premix Vitamínico	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Premix Mineral	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Phytase	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Inerte	0,28	0,90	0,83	0,81	0,81	0,81
Total	100	100	100	100	100	100
Composição nutricional calculada						
Energia Metabolizável, kcal/kg	2900	2900	2900	2900	2900	2900
Proteína Bruta, %	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
Cálcio, %	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91	0,91
Fósforo Disponível, %	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43	0,43
Sódio, %	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Lisina digestível, %	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03	1,03
Metionina digestível, %	0,42	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
Met+Cistina digestível, %	0,69	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Treonina digestível, %	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
Colina, mg/kg	1760	1319	1319	1319	1319	1319
Bal, Eletrolítico, MEq/kg	212	212	212	212	212	212

Níveis de garantia por kg de produto: Vit,A 8000000UI, Vit,D3 2000000UI, Vit,E 15000mg, Vit,K3 1960mg, Vit,B2 4000mg, Vit,B6 1000mg, Niacina 19800mg, Ácido Pantotênico 5350mg, Ácido Fólico 200mg, Biotina -60mg, Manganês 32500mg, Zinco 50000mg, Ferro 20000mg, Cobre 4000mg, Iodo 1500mg, Selênio 250mg, Cobalto 200mg, Antioxidante 100000mg, Veículo Q,S,P, 1000g,

Variáveis de desempenho e peso de órgãos

Para obtenção das variáveis de desempenho, semanalmente realizaram-se pesagens das aves de cada unidade experimental e das sobras de ração, a fim de calcular o consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA).

Ao final de 22 e 35 dias, duas aves por repetição que representavam o peso médio da parcela foram selecionadas e eutanasiadas para avaliações alométricas dos órgãos como fígado, intestino moela, proventrículo e pâncreas. Para tanto, utilizou-se balança digital (precisão de 0,01g) para a pesagem das vísceras.

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa de estatística computacional software SAS (Statistical Analyses System, version 9,0), submetendo os dados à análise de variância para desdobramentos dos dados e comparação das médias pelo o Teste de Tukey ($p < 0,05$) em caso de significância.

RESULTADOS

Desempenho

Conforme pode ser observado na Tabela 3, todas as variáveis de desempenho foram influenciadas pelos tratamentos ao longo de 35 dias.

Aos sete dias, o menor consumo de ração das aves submetidas ao tratamento CN refletiu diretamente sobre a piora no ganho de peso das aves, porém, não foi suficiente para influenciar a conversão alimentar. Com 14 dias, tanto o CN quanto o CN+0,12% Betaína também foram afetados pela redução de ganho de peso em decorrência do menor consumo de ração.

Por outro lado, ao final de 21 dias houve efeito da suplementação de betaína ou colina nas dietas com níveis reduzidos de metionina sobre a eficiência alimentar. O incremento observado sobre o ganho de peso das aves do tratamento CN+Colina melhorou a conversão alimentar mesmo sem apresentar influência sobre o consumo de ração. O CN+0,13% Betaína também demonstrou efeito sobre a eficiência alimentar; no entanto, a melhora nesta fase de criação foi afetada pelo menor consumo e aumento no ganho de peso.

O comportamento das aves aos 28 dias demonstrou que o tratamento CN+Colina mostrou-se com a mesma eficiência de suplementação observada aos 21 dias, mas a substituição de betaína pela colina ao nível de 100%, ou seja, 1100 mg/kg de betaína, não foi suficiente para atender às necessidades de crescimento das aves. Neste caso, tanto a suplementação de 800 mg/kg de colina quanto a combinação de 800 mg/kg de betaína com 300 mg/kg de colina, podem atender à demanda do metabolismo das aves por grupamentos metil.

Ao final de 35 dias, tanto o ganho de peso foi maior quanto a conversão alimentar mostrou-se mais eficiente para as aves alimentadas pelo tratamento CN+Colina.

Peso relativo dos órgãos

As médias referentes ao desenvolvimento dos órgãos das aves aos 21 dias de idade estão apresentadas na Tabela 4.

Houve efeito das diferentes relações de betaína, colina e metionina digestível sobre o peso relativo e absoluto do fígado, moela e intestino. As aves submetidas ao tratamento controle negativo (CN) apresentaram redução significativa sobre o peso relativo dos órgãos avaliados. Porém, quando observam-se as médias de peso absoluto e relativo do intestino e fígado percebe-se que ao uso de 1100 mg/kg de colina ou dosagens a partir de 750 mg/kg de betaína em dietas com redução dos níveis de metionina proporcionaram melhor desenvolvimento do intestino e fígado das aves.

Tabela 3. Médias de desempenho de codornas japonesas de 1 a 35 dias de idade alimentadas com rações apresentando diferentes suplementações de metionina, colina e betaína.

Idade das aves	Tratamentos						P (valor)	CV (%)
	Controle Positivo	Controle Negativo	CN + Colina	CN+0,06% Betaína	CN+0,08% Betaína	CN+ 0,12% Betaína		
consumo de ração (g/ave)								
1 a 7	35,68 ^a	28,95 ^b	33,73 ^a	34,21 ^a	34,62 ^a	33,31 ^a	0,000	5,65
1 a 14	102,6 ^a	93,70 ^b	100,64 ^a	102,84 ^a	101,70 ^a	93,61 ^b	0,017	5,44
1 a 21	178,53 ^a	173,35 ^{ab}	175,38 ^{ab}	176,85 ^{ab}	176,46 ^{ab}	165,81 ^b	0,034	3,80
1 a 28	309,64	298,21	300,13	303,73	302,33	296,59	0,41	3,68
1 a 35	516,43 ^a	488,84 ^b	486,36 ^b	501,15 ^{ab}	491,32 ^{ab}	482,89 ^b	0,045	3,51
ganho de peso (g/ave)								
1 a 7	17,52 ^a	13,92 ^b	16,64 ^a	16,33 ^a	16,96 ^a	16,08 ^a	0,001	6,75
1 a 14	46,80 ^a	40,49 ^b	42,96 ^b	41,43 ^b	44,05 ^{ab}	42,65 ^b	0,002	4,82
1 a 21	58,64 ^a	48,11 ^c	58,68 ^a	54,24 ^b	57,33 ^{ab}	58,44 ^a	0,000	3,66
1 a 28	95,09 ^a	83,39 ^b	92,54 ^a	90,57 ^{ab}	92,2 a	90,23 ^{ab}	0,001	4,72
1 a 35	122,3 ^{ab}	115,62 ^b	132,37 ^a	128,63 ^{ab}	123,95 ^{ab}	124,4 ^{ab}	0,002	5,20
conversão alimentar (g/g)								
1 a 7	2,05	2,08	2,02	2,09	2,04	2,07	0,91	5,82
1 a 14	2,19 ^a	2,32 ^{ab}	2,34 ^{ab}	2,49 ^b	2,31 ^{ab}	2,20 ^a	0,034	6,91
1 a 21	3,04 ^{ab}	3,60 ^c	2,98 ^a	3,26 ^b	3,04 ^{ab}	2,84 ^a	0,00	4,45
1 a 28	3,26 ^{ab}	3,59 ^b	3,25 ^a	3,36 ^{ab}	3,28 ^{ab}	3,29 ^{ab}	0,03	3,53
1 a 35	4,18 ^b	4,24 ^b	3,69 ^a	3,91 ^{ab}	3,96 ^{ab}	3,88 ^{ab}	0,015	6,81

CN - controle negativo; P - valores associados ao teste F da análise de variância; CV - coeficiente de variação.

Tabela 4. Médias de peso absoluto (g) e relativo (%) do fígado, proventrículo, moela, intestino e pâncreas de codornas japonesas com 21 dias de idade, alimentadas com dietas apresentando diferentes suplementações de metionina, colina e betaína.

Variáveis	Tratamentos						P (valor)	CV (%)
	Controle Positivo	Controle Negativo	CN+Colina	CN+0,08% Betaína	CN+0,105% Betaína	CN + 0,13% Betaína		
peso absoluto (g)								
Moela	1,98 ^a	1,71 ^b	1,81 ^{ab}	1,99 ^a	1,91 ^a	1,92 ^a	0,0016	5,50
Fígado	1,57 ^a	1,32 ^b	1,58 ^a	1,61 ^a	1,53 ^a	1,51 ^a	0,000	3,78
Proventrículo	0,35	0,30	0,34	0,33	0,32	0,37	0,29	14,61
Intestino	1,99 ^{ab}	1,75 ^b	2,18 ^a	2,25 ^a	1,97 ^{ab}	2,05 ^a	0,0002	8,02
peso relativo (%)								
Moela	2,59	2,96	2,79	2,90	2,81	2,78	0,210	8,92
Fígado	2,08 ^b	2,47 ^a	2,34 ^{ab}	2,44 ^a	2,22 ^{ab}	2,19 ^b	0,008	8,36
Proventrículo	0,49	0,52	0,50	0,47	0,47	0,54	0,410	13,78
Intestino	2,58 ^b	3,19 ^{ab}	3,25 ^a	3,42 ^a	2,91 ^{ab}	3,03 ^{ab}	0,010	12,34

CN - controle negativo; P - valores associados ao teste F da análise de variância; CV - coeficiente de variação.

Na Tabela 5 estão apresentadas as médias de peso absoluto e relativo de codornas japonesas aos 35 dias de idade.

Os resultados do presente estudo demonstram que a inclusão de betaína em combinação adequada com a colina em dietas apresentando níveis reduzidos de metionina melhoram significativamente o desempenho de codornas na fase de crescimento e o desenvolvimento de órgãos do trato digestório como fígado, moela e intestino. Aos 21 dias, observou-se que é possível reduzir os níveis de metionina digestível das dietas, desde que haja suplementação de colina ou betaína ao nível de 1100 mg/kg e 1300 mg/kg, respectivamente.

Com exceção do peso absoluto e relativo do intestino e também do percentual do peso de fígado, não houve influência dos tratamentos sobre as características de desenvolvimento dos órgãos das aves aos 35 dias. Neste período, o máximo de peso absoluto de intestino foi obtido a partir da suplementação de 600 mg/kg de betaína em combinação com 500 mg/kg de colina em dietas com redução de metionina das dietas.

Tabela 5. Médias de peso absoluto (g) e relativo (%) do fígado, proventrículo, moela, intestino e pâncreas de codornas japonesas com 35 dias de idade, alimentadas com dietas apresentando diferentes suplementações metionina, colina e betaína.

Variáveis	Tratamentos						P (valor)	CV (%)
	Controle Positivo	Controle Negativo	CN+Colina	CN+0,06% Betaína	CN+0,08% Betaína	CN+0,12% Betaína		
peso absoluto (g)								
Moela	3,32	3,26	3,21	3,49	3,16	3,41	0,21	5,50
Fígado	3,51	3,77	3,46	3,59	3,32	3,53	0,11	3,78
Proventrículo	0,6	0,59	0,55	0,56	0,6	0,58	0,71	14,61
Intestino	4,41ab	4,54ab	4,48ab	4,87 ^a	4,52ab	4,00b	0,03	8,02
Pâncreas	0,39	0,41	0,40	0,38	0,39	0,43	0,64	12
peso relativo (%)								
Fígado	2,28b	2,48 ^a	2,41ab	2,48ab	2,34b	2,45ab	0,010	11,53
Proventrículo	0,39	0,43	0,38	0,37	0,42	0,42	0,110	12,08
Moela	2,24	2,49	2,22	2,33	2,23	2,48	0,210	10,65
Intestino	2,86b	3,57 ^a	2,94ab	3,24ab	3,29ab	2,91ab	0,016	12,10
Pâncreas	0,25	0,31	0,27	0,26	0,27	0,27	0,26	16,08

CN - controle negativo; P - valores associados ao teste F da análise de variância; CV - coeficiente de variação

DISCUSSÕES

As dietas CN+0,13% Betaína e CN+Colina ao final de 21 dias, mostraram-se mais eficientes no equilíbrio de doação de grupamentos metílicos para as reações de síntese proteica, em função do maior ganho de peso e menor conversão alimentar observada em relação aos demais tratamentos. Por outro lado, mesmo sem apresentar efeito sobre o consumo, a insuficiência de grupamentos metílicos na composição nutricional do tratamento (CN) pode ter estimulado maior necessidade de consumo das aves, refletindo-se negativamente sobre o ganho de peso e piora na conversão alimentar.

Entretanto, aos 35 dias observou-se que o tratamento CN+Colina demonstrou maior potencial na função de doação de grupos metil para as reações de metilação no organismo. A molécula de colina possui três radicais metil (-CH₃) que atua na síntese de compostos importantes, como a metionina, carnitina, fosfatidilcolina e creatina (EL-HUSSEINY et al., 2008). Dessa forma, a colina como doadora destes grupamentos para o processo de remetilação, possibilita que a metionina seja direcionada para a síntese de proteína, economizando a participação desse aminoácido na doação de grupamentos metil (METZLERZEBELI et al., 2009).

Por outro lado, o tratamento ausente de suplementação de radicais metilados tanto na forma de colina quanto de betaína (CN) limitou o crescimento devido a menor síntese proteica, acompanhando o mesmo comportamento observado na fase de 21 dias. Os resultados do presente estudo demonstram que a inclusão de betaína em combinação adequada com a colina em dietas apresentando níveis reduzidos de metionina melhoram significativamente o desempenho de codornas na fase de crescimento e o desenvolvimento de órgãos do trato digestório como fígado, moela e intestino. Aos 21 dias, observou-se que é possível reduzir os níveis de metionina digestível das dietas, desde que haja suplementação de colina ou betaína ao nível de 1100 mg/kg e 1300 mg/kg, respectivamente.

Aos dias 35 dias, o uso entre 600 a 800 mg/kg de betaína em combinação com 500 e 200 mg/kg de colina respectivamente, ou apenas a suplementação 900 mg/kg de colina permite melhor resposta de desempenho das aves. A eficiência da resposta à suplementação de betaína será variável em função ao nível da proteína e metionina das

dietas e das diferenças de status de estresse dos animais, para que o uso da metionina seja direcionado exclusivamente para síntese proteica.

Assim como a betaína é derivada da colina por um sistema enzimático denominada colina oxidase (COMBS, 1998), é necessário que as reações de metilação sejam contempladas com o uso da colina, ingrediente de menor custo nas rações (CASTRO et al., 2011). Porém, se o nível de metionina da dieta referência estiver acima da exigência das aves, a retirada de parte da suplementação de DL- metionina, com a inclusão de betaína, pode indicar resultados inconclusivos, pois a quantidade de metionina suplementar ainda presente em dieta referência pode suprir o requerimento do animal.

Além disso, há evidências de que a deficiência de colina em aves jovens não seja pela total incapacidade das mesmas de sintetizarem esse nutriente, mas sim à impossibilidade de conseguirem metabolizar a uma taxa que satisfaça as suas necessidades, tornando-a essencial. Aparentemente, a síntese de colina em aves aumenta com a idade (LEESON; SUMMERS, 2001), o que pode justificar os melhores índices de ganho de peso e conversão alimentar aos 35 dias, observado pelas aves que consumiram ração com níveis reduzidos de metionina, apresentando apenas colina como fonte de suplementação de grupamentos metil.

Por outro lado, os resultados de desempenho apresentado neste trabalho até os 21 dias de idade demonstraram que a suplementação de betaína como forma compensar parcialmente a DL-metionina possivelmente mostrou-se mais eficiente devido a maior capacidade de doar grupos metil quando comparado à colina. Assim, o uso de betaína como doadores de radicais metil pode reduzir a necessidade cloreto de colina e otimizar o uso da metionina para síntese proteica, elevando a eficiência da betaína.

Com relação ao desenvolvimento de órgãos do trato digestivo, observa-se que a dieta CN promoveu maiores médias para o peso relativo do fígado e intestino, indicando que a falta de grupamentos metil na dieta por parte da redução de metionina sem suplementação de colina ou betaína, necessários para as reações de síntese proteica dos nutrientes absorvidos pelas aves nesta fase podem ser utilizados para deposição de tecidos.

Sakomura et al. (2013), avaliando o efeito da suplementação de betaína natural sobre a morfologia intestinal de frangos de corte criados em condições de termoneutralidade, concluíram que a suplementação de 0,1% ou 1 kg de betaína natural por tonelada de ração proporcionou maior altura dos vilos das aves, permitindo melhoras na capacidade digestiva-absortiva. Já Rezende (2015) constatou que a suplementação de betaína na proporção de 0,10%, tanto sintética quanto natural, em dietas de pintos de corte com sete dias de idade, não afeta o peso de órgãos digestivos, como pâncreas, proventrículo e moela, possibilitando a economia no uso das relações de aminoácidos. Além disso, quando os pintos atingiram os 21 dias de idade, o mesmo autor verificou que a suplementação de betaína sintética demonstrou melhores pesos de intestino delgado nas aves que foram alimentadas com dietas apresentando 73% de relação aminoacídica para aminoácidos sulfurados.

CONCLUSÃO

Aos 21 dias é possível reduzir metionina nas dietas de codornas japonesas em crescimento quando há suplementação de 1100 mg/kg colina ou de betaína ao nível de 1050 mg/kg em combinação com 250 mg/kg de colina. Na fase de 35 dias, a redução é permitida quando há uso de 900 mg/kg de colina ou suplementação de betaína a partir de 600 mg/kg em combinação com 500 mg/kg de colina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAGAWANY, M.; EL-HINDAWY, M.; ATTIA, A.; FARAG, M.; EL-HACK, M.A. Influence of Dietary Choline Levels on Growth Performance and Carcass Characteristics of Growing Japanese Quail. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v.3, n.2, p.109-115, 2015.

CASTRO, S.F.; FORTES, B.D.A.; CARVALHO, J.C.C.; BERTECHINI, A.G.; QUEIROZ, L.S.B. E; GARCIA, JR., A.A.P. Relação metionina e colina dietética sobre o desempenho de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) em postura, **Ciência Animal Brasileira**, v,12, p,635-641, 2011.

COMBS, G.F.F. **The Vitamins**. 2nd ed, San Diego: Academic Press, 1998.

EL-HUSSEINY, O.M.; EL DIN, G.; ABDUL-AZIZ, M. AND MABROKE, R.S. Effect of mixed protein schedules combined with choline and betaine on the growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Research**, n,39, p,291-300, 2008.

HEMID, A.E.A.; EL-GAWAD, A.A.; EL-WARDANY, I.; EL-DALY, E.F.; EL-AZEEM, N.A. Alleviating effect of some environmental stress factors on productive performance of laying quail, **World Journal of Agricultural Sciences**, n,6, p,517- 524, 2010.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D.; CASTON, L. J. Response of layers to low nutrient density diets, **Journal applied Poultry Research**, v,10, p.46-52, 2001.

MAHMOUD, A., MOHAMED, EL-H, , ADEL, A, , MAYADA, F., MOHAMED, A.EL-H. Influence of dietary choline levels on growth performance and carcass characteristics of growing Japanese quail, **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v,3, n,2, p,115-119, 2015.

METZLER-ZWBELI, B.; EKLUND, M.; MOSENTHIN, R. Impact of osmoregulatory and methyl donor functions of betaine on intestinal health and performance in poultry. **World's Poultry Science Journal**, v.65, n.3, p.419-442, 2009.

PILLAI, P.B.; FANATICO, A.C.; BLAIR, M.E. AND EMMERT. J.L. Homocysteine remethylation in broilers fed surfeit choline or betaine and varying levels and sources of methionine from eight to twenty-two days of age, **Poultry Science**, v,85, p,1729- 1736 2006.

REZENDE, P. M. **Relações de aminoácidos sulfurados: lisina digestíveis e diferentes fontes de betaína nas dietas pré-inicial e inicial de frangos de corte**, 60f, Dissertação (Mestrado) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (FVZ), Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.

ROSTAGNO H S, ALBINO, F. L. T.; DONZELE, J. L.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C., FERREIRA, A. S.; BARRETO, S. L. T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos** – Composição de alimentos e exigências nutricionais, 4ª Ed, Universidade Federal de Viçosa; 2017, 4883p.

SAKOMURA, N.K.; BARBOSA, N.N.A.; SILVA, E,P.; LONGO, F,A.; KAWAUCHI I,M,; FERNANDES, J.B.K. Efeito da suplementação de betaína em dietas de frangos de corte em condições de termoneutralidade, **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v,8, n,2, p,336-341, 2013.

SIMON, J. Choline, betaine and methionine interactions in chickens, pigs and fish (including crustaceans). **World's Poultry Science Journal**, v,55, n,4, p,353- 374, 1999.

VELOSO, R. C.; FERREIRA, T.A.; DRUMOND, E.S.C.; PIRES, A.V.; COSTA, J.A.M.L.S; ABREU, L.R.A.; BONAFÉ, C.M.; PINHEIRO, S.R.F.;PEREIRA, I.G.P. Divergência genética entre codornas de corte para características de produção. **Ciência Rural**, v. 45, n. 8, p. 1509-1514, 2015.

WARD, M. Homocysteine, folate and cardiovascular disease. **Journal Vitamin Nutrition Research**, v,7, n,3, p,173-178, 2001.

CAPÍTULO 4

Suplementação de metionina, colina e betáina em de codornas japonesas durante a fase de postura

RESUMO

Com objetivo de avaliar o desempenho, a qualidade de ovos e os componentes bioquímicos do sangue de codornas alimentadas com dietas contendo diferentes suplementações de metionina colina e betaína durante a fase de postura, realizou-se um experimento com 216 codornas japonesas apresentando 63 dias de idade. As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos, seis repetições e 10 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram: controle positivo (CP) - ração atendendo às recomendações para a fase de postura; controle negativo (CN) - ração com redução dos níveis de metionina sem a suplementação da metionina, colina e betaína; CN+Colina - ração CN com suplementação de com suplementação de 1000 mg/kg; CN+0,07%Betaína - ração CN com suplementação de 500 mg/kg de colina e 700 mg/kg de betaína; CN+0,10%Betaína - ração CN com suplementação de 300 mg/kg de colina e 1000 mg/kg de Betaína; CN+0,12%Betaína- ração CN com suplementação de 1200 mg/kg de betaína. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey ($p < 0,05$). Os dados dos componentes bioquímicos do sangue foram analisados por multivariada por meio de teste de Wilk's Lambda ($p = 0,9946$). Houve influência para o percentual, peso ovos e conversão alimentar por massa de ovos. O CN+0,10%Betaína exerceu maior influência sobre o percentual de postura e o CN+Colina sobre o peso médio de ovos. Para a massa e conversão alimentar por massa de ovos houve melhora com as dietas CN+0,07%Betaína. Com relação à qualidade dos ovos, o maior peso de gema foi observado para as aves do CN+Colina e o percentual de casca para as aves do tratamento (CN). As variáveis séricas não demonstraram diferença sobre os tratamentos avaliados. Dessa forma, é possível concluir que a betaína e a colina podem substituir parcialmente a metionina quando são suplementadas em combinação a partir do nível de 700 e 500 mg/kg de ração, respectivamente.

Palavras-chave: Betaína-Homocisteína-Metil-Transferase; Cistina; Componentes séricos; Homocisteína; Inter-relações; Peso de gema.

ABSTRACT

With the objective of to evaluate the performance, egg quality and the blood Biochemistry of quails fed with different supplementation diets of Methionine, Choline and Betaine during the laying phase, was realized a experiment with 216 Japanese quails with 63 days of age. The animals were distributed in a completely randomized design with 6 treatments, 6 repetitions and 10 birds per experimental unit. The treatments were: Positive Control (PC) – ration that attended the nutritional recommendation to laying phase; Negative Control (NC) – ration with Methionine level reduced without supplementation of Methionine, Choline and Betaine; NC+Choline – NC ration with supplementation of 1,000 mg/kg; NC+0.10%Betaine – NC ration with supplementation of 300 mg/kg Choline and 1,000 mg/kg Betaine; NC+0.12%Betaine – NC ration supplemented with 1,200 mg/kg of Betaine. The results were submitted by variance analysis (ANOVA) and the averages were compared by Tukey test ($p < 0.05$). The Biochemistry blood data were analyzed by multivariate perspective was used the Wilk's Lambda ($p = 0.9946$). Was perceived influence to weight eggs and feed conversion per egg mass percentages. The NC+0,10%Betaine diet exerted great influence on lying percentage and NC+Choline on egg weight average. For the egg mass and feed conversion per egg mass was perceived improvement in the treatment NC+0.07%Betaine. In relation to egg quality, the major yolk weight was observed to birds of NC+Choline treatment and the egg shell percentage to NC treatment. The seric variables didn't showed significative difference. Thus is possible concluded that the Betaine and Choline can substitute partially the methionine when supplemented in combination from the level 700 and 500 mg/kg on ration respectively.

Key-words: Betaine-Homocisteine-Metil-Transferas, Cistine, Seric Components, Homocisteine, Interrelations, Yolk Weight.

INTRODUÇÃO

Dentro do segmento avícola, a expansão da coturnicultura vem sendo cada vez mais sendo evidenciada devido à intensificação ocorrida nos processos de criação, os aumentos dos volumes de produção e pela demanda de eficiência nos sistemas produtivos. Porém, além de fatores relacionado às instalações e ao bem-estar animal, o sucesso da atividade dependem da qualidade nutricional da dieta, uma vez que a nutrição deve garantir níveis nutricionais adequados para que as aves maximizem a produção de ovos, bem como garantir a economicidade das dietas.

Mesmo com toda implementação de novas tecnologias ocorridas nos últimos anos, as informações acerca das exigências nutricionais das codornas japonesas ainda são limitadas. Desta forma, o conhecimento do metabolismo desses animais, de modo a proporcionar uma nutrição adequada, faz-se incondicionalmente necessário para melhorias na eficiência do desempenho produtivo (GARCIA et al., 2012).

As dietas para codornas são geralmente baseadas em milho e farelo de soja e, sendo assim, a metionina tornou-se o primeiro aminoácido limitante, devendo ser suplementada por meio de uma fonte industrial. A sua suplementação, além de proporcionar melhoria na qualidade da proteína dietética e reduzir a concentração da proteína bruta com a suplementação de outros aminoácidos industriais, atua como doador de grupos metil ativos na síntese de várias substâncias envolvidas no crescimento das aves (BAKER et al., 1996).

Mas, para que as células mantenham o funcionamento normal de suas atividades, como as reações metilação-DNA, a síntese de fosfatidilcolina e síntese de proteínas OBEID (2013), são necessários que os grupamentos metil sejam constantemente fornecidos na dieta. Além da metionina, a colina e a betaína também são nutrientes encontrados nos alimentos que possuem radical metil (CH_3) quimicamente reativos, capazes de serem doados para participar de reações importantes ao organismo.

A colina, durante o seu metabolismo, é transformada na betaína pelos processos de oxidação nas mitocôndrias, por meio de ação de enzimas específicas, como a colina oxidase e betaína aldeído desidrogenase (RATRIYANTO et al., 2009). Por outro lado, dos três radicais metil presentes na molécula da betaína, apenas um pode atuar como um doador de metil na conversão da homocisteína em metionina. Esta reação é catalisada

especificamente pela enzima Betaína-Homocisteína-Metil-Transferase, que é dependente da vitamina B12 encontrada em quantidades significantes somente no fígado, que, por sua vez, realiza o transporte do pré-formado grupo metilo a partir da molécula de betaína para a homocisteína. Os outros dois grupamentos de uma unidade de carbono da betaína entram no grupo de folato para a formação de 5, 10-metilenetetra-hidrofolato nas mitocôndrias (KIDD et al., 1997).

Apesar da forte interação, adotar uma recomendação nutricional econômica para um balanço adequado entre esses nutrientes na dieta exige que estudos relacionados aos processos metabólicos ou bioquímicos do organismo sejam mais elucidados para evitar sérios prejuízos aos desempenhos das aves (SANTANA et al., 2014).

Neste contexto, objetivou-se com o presente estudo avaliar os efeitos sobre o desempenho, a qualidade de ovos e os componentes bioquímicos do sangue de codornas japonesas alimentadas com dietas apresentando diferentes suplementações de metionina colina e betaína durante a fase de postura.

MATERIAL E MÉTODOS

Local, instalações, manejo dos animais e programa de luz

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética sobre o uso de animais – CEUA, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sob a licença: 114/2015. O experimento foi conduzido no Laboratório de digestibilidade de Não Ruminantes, pertencente ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Utilizaram-se 216 codornas japonesas fêmeas da empresa de seleção genética Fujikura (*coturnix coturnix coturnix*) com 63 dias de idade, peso médio de 160,97+ 8,90 gramas e percentual de produção de ovos + 85%.

As aves foram alojadas em gaiolas de arame galvanizado com dimensão de 33 cm de comprimento x 33 cm de profundidade x 20 cm de altura, dispostas em três andares verticais, compostas por comedouros do tipo calha e bebedouro automático com copinho, e uma densidade de 181,5 cm²/ave alojada. O programa de luz utilizado seguiu as recomendações do respectivo manual de manejo da empresa fornecedora das aves, adotando um total de 17 horas de luz (natural + artificial) controlado por um relógio

automático temporizado (timer). A quantidade de ração para consumo semanal foi pesada com base no consumo médio em quantidades suficientes para semana. A temperatura e a umidade relativa do ar no interior do ambiente de criação das aves foram registradas diariamente num intervalo de 10 minutos pelo datalogger (HOBO U12-012), sendo verificada uma média de 27,5° e 71% para temperatura e umidade, respectivamente.

Delineamento experimental e tratamentos

As aves previamente uniformizadas pelo peso corporal e produção de ovos foram distribuídas num delineamento inteiramente casualizado, em seis tratamentos, seis repetições e seis aves por unidade experimental. Os tratamentos foram compostos por uma dieta controle positivo (CP), uma dieta controle negativo (CN), além de mais quatro dietas constituídas por níveis de suplementação de betaína em substituição parcial e total do cloreto de colinas apresentando níveis reduzidos de metionina+cistina digestível (met+cis dig). Dessa forma, os tratamentos foram os seguintes: (CP) – dieta formulada de acordo com as exigências descritas pela Tabela Brasileira para Aves e Suínos (ROSTAGNO et al, 2017), CN - dieta com redução de 13% das recomendações dos níveis de met+cis dig sem fonte suplementar de colina e betaína, CN+Colina - ração CN com suplementação de 800 mg/kg de colina; CN+008%Betaína - ração CN com suplementação de 400 mg/kg e 600 mg/kg de betaína; CN+0,10%Betaína – ração CN com suplementação de 200 mg/kg de colina e 800 mg/kg de betaína; CN+0,12%Betaína – ração CN com suplementação de 1200 mg/kg de betaína.

A fonte de betaína e os cálculos para que houvesse otimização da betaína como doadora de grupamentos metil com foco em metionina foram semelhantes aos descritos nos capítulos anteriores. Nas dietas em que houve substituição da betaína HCL por cloreto de colina, a suplementação ocorreu com base na estrutura molecular de cada um dos ingredientes. A composição alimentar e nutricional das rações para as codornas japonesas em fase de produção de ovos estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Composição centesimal dos ingredientes e níveis nutricionais das rações experimentais para codornas japonesas na fase produção de ovos.

Ingredientes	Tratamentos					
	Controle Positivo	Controle Negativo	CN+Colina	CN+0,07% Betaína	CN+0,10% Betaína	CN+0,12% Betaína
Milho	55,51	55,62	55,41	55,41	55,41	55,41
Farelo de soja 45%	32,18	32,29	32,33	32,33	32,33	32,33
Óleo de soja	2,11	2,1	2,17	2,17	2,17	2,17
Calcário calcítico 37%	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24	8,24
Fosfato bicálcico 18,5/24%	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93	0,93
Sal refinado	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29
Bicarbonato de sódio	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
DL-Metionina 99%	0,18	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09
L-Lisina 78,8%	0,08	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09
L-Treonina 98%	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01
Cloreto de colina 60%	0,10	0,00	0,10	0,05	0,02	0,00
Betaína HCL 72%	0,00	0,00	0,00	0,07	0,10	0,12
Premix Vitamínico	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix Mineral	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Phytase	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100	100	100	100	100	100
Composição nutricional calculada						
Energia Metabolizável, kcal/kg	2900	2900	2900	2900	2900	2900
Proteína Bruta, %	19,0	19,0	19,0	19,0	19,0	19,0
Cálcio, %	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50
Fósforo Disponível, %	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
Sódio, %	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Lisina digestível, %	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Metionina digestível, %	0,44	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Met+Cistina digestível, %	0,70	0,61	0,61	0,61	0,61	0,61
Treonina digestível, %	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66	0,66
Colina, mg/kg	1780	1247	1247	1247	1247	1247
Bal, Eletrolítico, MEq/kg	200,4	201,0	201,0	201,0	201,0	201,0

Níveis de garantia por kg de produto: Vit,A 8000000UI, Vit,D3 2000000UI, Vit,E 15000mg, Vit,K3 1960mg, Vit,B2 4000mg, Vit,B6 1000mg, Niacina 19800mg, Ácido Pantotênico 5350mg, Ácido Fólico 200mg, Biotina –60mg, Manganês 32500mg, Zinco 50000mg, Ferro 20000mg, Cobre 4000mg, Iodo 1500mg, Selênio 250mg, Cobalto 200mg, Antioxidante 100000mg, Veículo Q,S,P, 1000g,

Desempenho

Semanalmente, as sobras de ração foram pesadas para realizar os cálculos do consumo de ração e conversão alimentar. Os ovos foram coletados e pesados diariamente em balança de precisão de 0,01 g, e sua produção foi expressa como percentual de ovos produzidos sobre o número de aves por dia (%/ave/dia). A massa de ovos foi obtida em g de ovo/ave/dia, dividindo-se a produção de ovos/100 e o resultado sendo multiplicado pelo peso médio dos ovos. A conversão alimentar por massa de ovo foi calculada dividindo-se o consumo médio de ração pela massa de ovo (g/g). A conversão alimentar por dúzia de ovo foi calculada pela multiplicação do consumo médio de ração por doze (g/dúzia).

Qualidade dos Ovos

Nos três últimos dias de cada período experimental foram coletados três ovos íntegros de cada parcela para determinação do peso da gema, do albúmen e da casca, espessura da casca, altura de albúmen. Após a pesagem individual dos ovos em balança eletrônica de precisão de 0,01g, separou-se manualmente a gema do albúmen. As cascas devidamente identificadas foram lavadas para retirada total do albúmen e colocadas estufas de ventilação forçada a uma temperatura de 55°C por 24 horas, procedendo posteriormente, a pesagem. Com os pesos da gema e casca, por diferença, obteve-se o peso do albúmen e, em seguida, calculou-se o percentual das partes (gema, casca e albúmen) em relação ao peso do ovo. Com relação à Unidade Haugh, utilizou-se a fórmula descrita por Card e Nesheim (1966): $UH = 100 \log (H+7,57-1,7W^{0,37})$, em que H é a altura do albúmen (mm) e W é o peso do ovo (g).

Coleta de amostras e avaliação dos componentes bioquímicos do sangue

Os componentes séricos foram obtidos ao final do último período experimental, sendo utilizada uma ave por repetição. As aves foram abatidas por meio de decapitação e o sangue coletado em tubos a vácuo sem anticoagulante, numa quantidade de aproximadamente 5 mL. As amostras foram colocadas em temperatura ambiente para obtenção do soro sanguíneo e, após este procedimento, transferiu-se o conteúdo do recipiente para os eppendorfs de 2 mL devidamente identificados para serem estocados

a -20°C. Posteriormente, foram realizadas análises das concentrações séricas de ácido úrico (mg/dl), albumina (g/dl), AAST (U/L), ALT (U/L), proteínas totais (g/dl) e creatinina (mg/dl). As análises dos substratos bioquímicos foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal – BLOPA localizado no Departamento de Zootecnia, pertencente UFRPE, por meio de analisador semiautomático Modelo D-250® e kits sorológicos de quantificação da marca empresarial Doles, respectivamente, seguindo os protocolos descritos pelo fabricante.

Análises estatísticas

As análises estatísticas para os parâmetros de desempenho e qualidade dos ovos foram realizadas submetendo os dados à análise de variância e o teste de comparação das médias pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$) em caso de significância. Os componentes bioquímicos do sangue foram submetidos à análise multivariada por meio de Teste de Wilk's Lambda ($p = 0,9946$). Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa Statistical Analyses System version 9,0 (SAS, 2004) e considerou-se o nível de significância igual ou inferior a 5%.

RESULTADOS

Desempenho

Conforme pode ser observado na Tabela 2, houve influência dos tratamentos para as características de percentagem de postura, massa de ovos e conversão alimentar por massa de ovos. Com relação à percentagem de postura, as aves alimentadas pelo CN foram influenciadas negativamente pela redução dos níveis nutricionais de metionina suplementar. Porém, quando houve a suplementação de 1000 mg/kg de betaína e 200 mg/kg de cloreto de colina nas dietas, a produção de ovos demonstrou maior efeito significativo em relação aos demais tratamentos.

Para a variável de peso médio dos ovos, as aves alimentadas pelo tratamento CN+Colina apresentaram maior influência no tamanho dos ovos quando comparadas às aves dos demais tratamentos. A redução de metionina suplementar com ausência de

colina e betaína reduziu o peso dos ovos. Com relação à massa de ovos, houve maior influência as aves dos tratamentos CN+0,07% Betaína e do CP; no entanto, em função do menor peso e produção de ovos, as aves do CN também reduziram a massa de ovos.

A dieta CN+0,12% Betaína e as demais com suplementação de betaína com doses decrescentes de colina não foram suficientes para exercerem efeito sobre a massa dos ovos.

Tabela 1. Médias de desempenho produtivo de codornas japonesas alimentadas com rações apresentando diferentes suplementações de metionina, colina e betaína.

Variáveis	Tratamentos						P (valor)	CV (%)
	Controle Positivo	Controle Negativo	CN+Colina	CN+0,07% Betaína	CN+0,10% Betaína	CN+0,12% Betaína		
Consumo de ração, (g/ave/dia)	27,36	28,05	27,94	27,59	27,76	27,05	0,580	3,64
Porcentagem de postura, (%)	88,65 ^a	85,29 ^b	87,76 ^{ab}	86,87 ^{ab}	89,36 ^a	88,25 ^{ab}	0,009	2,07
Peso médio dos ovos, (g)	11,58 ^{ab}	10,88 ^b	11,78 ^a	11,42 ^{ab}	11,30 ^{ab}	11,09 ^{ab}	0,019	3,92
Massa de ovos, (g/ave/dia)	10,58 ^a	9,98 ^b	10,49 ^{ab}	10,59 ^a	10,43 ^{ab}	10,41 ^{ab}	0,038	2,99
Conversão por massa de ovos (g/g de ovos)	2,59 ^b	2,88 ^a	2,67 ^{ab}	2,61 ^b	2,66 ^{ab}	2,54 ^b	0,008	5,68
Conversão por dúzia de ovos (kg/dúzia de ovos)	0,41	0,43	0,40	0,39	0,39	0,38	0,006	6,57

CN - controle negativo; P - valores associados ao teste F da análise de variância; CV - coeficiente de variação.

Também houve influência das dietas sobre a conversão alimentar por massa de ovos. Apesar de não ter demonstrado diferença sobre o consumo, as menores taxas de postura e os menores índices de peso e massa de ovos proporcionaram piora na conversão alimentar das aves que receberam dietas CN. Entretanto, mesmo com melhor peso dos ovos observado para as aves do CN+Colina, a conversão alimentar por massa de ovos não demonstrou melhora para este tratamento.

Os melhores resultados de conversão alimentar por massa podem ser observados nas aves alimentadas com as dietas CN+0,07% Betaína e CN+0,12% Betaína, em que, juntamente com o tratamento CP, podem ser justificados pelo aumento da massa de ovo.

Qualidade de ovos

Com exceção do peso de gema e do percentual de casca, nenhuma das variáveis de qualidade dos ovos foram influenciadas pelos tratamentos experimentais, conforme pode ser visto na Tabela 3, na qual estão apresentadas as médias dos parâmetros de qualidade dos ovos para cada fase experimental.

As aves alimentadas com a dieta CN+Colina apresentaram melhor peso de gema, mas não diferiram dos tratamentos CN+0,07% e CN+010% Betaína. Com relação ao percentual de casca, observa-se que houve maior valor para o tratamento CN, pois a ausência de significância no peso do albúmen e o menor peso observado para a gema permitiram que a casca demonstrasse maior percentual em relação às demais partes constituintes do ovo. No entanto, o comportamento inverso pode ser observado pelas aves do tratamento CN+Colina, que apresentaram menores percentuais de casca, em função do maior peso gema.

Bioquímica sérica

Os componentes bioquímicos do sangue não demonstraram influência sobre os parâmetros de ácido úrico, proteínas totais, albumina, creatinina, AST e ALT de codornas japonesas durante a fase de postura sobre os tratamentos estudados, indicando que mesmo com a redução dos níveis dietéticos de metionina+cisteína digestível sem nenhuma fonte suplementar de grupos metil foi suficiente para causar desequilíbrio entre os metabólitos sanguíneos, conforme podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 3. Médias da avaliação da qualidade dos ovos de codornas japonesas alimentadas com rações contendo diferentes suplementações de metionina colina e betaína.

Variáveis	Tratamentos						P (valor)	CV (%)
	Controle Positivo	Controle Negativo	CN+Colina	CN+0,06% Betaína	CN+0,08% Betaína	CN+0,12% Betaína		
Peso da gema, (g)	3,41 ^{ab}	3,14 ^b	3,61 ^a	3,31 ^{ab}	3,41 ^{ab}	3,22 ^b	0,002	5,33
Peso de albúmen, (g)	7,37	6,82	7,19	7,38	7,31	7,09	0,13	5,35
Altura de albúmen, (mm)	4,42	4,41	4,47	4,30	3,88	4,30	0,14	8,53
Unidade Haugh	89,02	89,57	89,08	88,11	87,32	88,71	0,48	2,31
Peso de casca, (g)	0,97	0,93	0,96	0,95	0,96	0,94	0,54	4,46
Espessura de casca, (mm)	0,26	0,26	0,25	0,25	0,27	0,26	0,29	3,33
Gema, (%)	27,77	28,8	28,96	27,41	26,74	27,59	0,93	6,71
Albúmen, (%)	63,82	62,66	62,91	64,63	64,81	63,96	0,93	6,71
Casca, (%)	8,40 ^{ab}	8,55 ^a	8,12 ^b	8,35 ^{ab}	8,45 ^{ab}	8,45 ^{ab}	0,052	2,65

CN - controle negativo; P - valores associados ao teste F da análise de variância; CV - coeficiente de variação.

Tabela 4. Componentes bioquímicos de codornas japonesas alimentadas com rações apresentando diferentes suplementações de metionina, colina e betaína.

Variáveis	Tratamentos						P (valor)	SEM
	Controle Positivo	Controle Negativo	CN + Colina	CN+0,06% Betaína	CN+0,08% Betaína	CN+0,12% Betaína		
AST, (U/L)	273,65	226,52	228,6	241,33	201,91	276,12	0,720	39,93
ALT, (U/L)	13,72	11,93	14,81	10,11	15,77	10,31	0,900	4,16
Ácido Úrico, (mg/dl)	4,88	6,06	4,99	3,42	5,26	4,21	0,730	1,11
Proteínas Totais, (g/dl)	6,92	7,7	7,32	7,64	7,49	7,34	0,880	0,44
Albumina, (g/dl)	0,33	0,29	0,31	0,33	0,31	0,33	0,980	0,04
Creatinina, (g/dl)	0,28	0,47	0,23	0,29	0,53	0,32	0,850	0,16

CN - controle negativo; P - valores associados ao teste F da análise de variância; SEM – erro padrão da média.

DISCUSSÕES

O presente estudo demonstrou que a redução de metionina suplementar sem o balanço adequado entre grupamentos metil como betaína ou colina em dietas de codornas japonesas durante a fase de postura, afeta negativamente o desempenho das aves. Este comportamento pode ser observado a partir da redução significativa do percentual de postura e massa de ovos produzida pelo tratamento CN, assumindo que a hipótese adotada no experimento de que a substituição de metionina suplementar por betaína e colina influencia diretamente na melhora das respostas destas variáveis.

Diante dessa perspectiva, o experimento vem ratificar que em situações estratégicas que venham estimular a redução da inclusão de metionina suplementar, o uso de tecnologias alimentares como forma de garantir os índices de produtividade, podem, sem ser tornar boas alternativas aos nutricionistas, manter o equilíbrio da atividade. Neste contexto, observa-se que a maior percentagem de postura para as aves alimentadas com a dieta CN+010% Betaína indica que é possível lançar mão da redução de inclusão DL-Metionina, desde que haja relação adequada entre as fontes de betaína e colina para este objetivo em específico.

Com relação ao peso médio dos ovos, as aves do tratamento CN+Colina mostraram-se mais eficientes frente à redução dos níveis de aminoácidos sulfurados, o que pode ser comprovado pelo maior peso de gema observado para este tratamento. Analisando sob o ponto de vista da massa de ovos foi verificado que a suplementação de níveis a partir de 700 mg/kg de Betaína em combinação com 500 mg/kg de colina, podem ser recomendada como forma de poupar o uso de metionina sem comprometer os parâmetros que relaciona a produção com o peso dos ovos. Da mesma forma, também não se verificou tendência distinta para conversão alimentar quanto ao uso de betaína ou colina na valorização de metionina nas rações. Neste caso, a ausência do efeito sobre o consumo permitiu que as variáveis de massa de ovos promovessem melhora na eficiência de conversão de gramas de ração ingerida por gramas de ovos produzida.

Mas isto não significa que apenas o uso de betaína ou colina com o objetivo de diminuir a dependência total de metionina em suplementar grupamentos metil na dieta pode manter os resultados de desempenho esperados, pois os doadores clássicos de

grupamento metílicos como metionina, betaína e colina dependem da interação no metabolismo celular com os elementos como ácido fólico, vitamina B12 e vitamina B6, evitando comprometimento do metabolismo da homocisteína para conversão novamente em metionina.

No âmbito de recomendação prática, isolando os critérios da pesquisa científica, existem duas abordagens que devem ser consideradas na incorporação de betaína nas formulações das dietas. Uma delas é que a betaína pode substituir a colina e a metionina numa razão calculada com base no peso molecular relativo de cada molécula em relação à betaína. O segundo aspecto é que a eficácia da taxa final de substituição final da betaína pela metionina ou colina suplementar terão efeitos aditivos.

Viana et al. (2009) reportam que o nível adequado de metionina+cistina é dependente da finalidade de produção, da genética, da idade do animal, do ambiente e dos custos de produção. Assim, é necessário que estudos mais específicos para demonstrar a interação entre metionina, colina e betaína sejam realizados no intuito avaliar aspectos produtivos, fisiológicos e econômicos, a fim de determinar os níveis adequados de substituição de betaína e colina pela metionina.

Ratriyanto et al. (2017), ao suplementarem níveis entre 0,00, 600 e 1200 mg/kg de betaína em dietas de codornas japonesas fêmeas com níveis de aminoácidos sulfurosos similares à dieta controle positivo deste experimento, verificaram que não houve interação significativa entre as dietas sobre as variáveis de desempenho. Porém, quando analisou-se o desdobramento apenas para suplementação de betaína concluíram que dosagens a partir de 600 mg/kg melhoraram as variáveis produtivas das aves. Neste estudo, o efeito significativo para suplementação da betaína pode ser explicado pela ausência de balanço adequado com a colina.

Um dos principais processos metabólicos no organismo dos animais é a remetilação da homocisteína à metionina (reciclagem da metionina) no metabolismo de aminoácidos sulfurados, que envolve enzimas de diversos órgãos, tais como o fígado, pâncreas e rins. Vários fatores podem interferir no processo de remetilação da homocisteína à metionina, destacando-se a interação entre a colina, a betaína e a metionina (SANTANA et al., 2014). Este fato pode ser associado aos estudos conduzidos por Vicente et al. (2018) que ao utilizarem dietas com níveis 0,58% de metionina+cisteína digestível suplementadas com colina para galinhas poedeiras, verificaram efeito significativo para

o peso absoluto de gema, corroborando os resultados obtidos nesta pesquisa, em que a substituição parcial da colina pela metionina no tratamento CN+Colina refletiu sobre a quantidade disponível de colina no organismo que atuam na formação de gema.

Lisboa et al. (2014) reiteram a importância da colina na participação ativa na síntese de fosfolipídios importantes como lecitina, esfingomielina e acetilcolina, que, por sua vez, atuam na absorção e transporte das gorduras no fígado e da posterior mobilização e transporte das gorduras hepáticas. Este fato pode estar associado a maior de disponibilidade de ácidos graxos livres no organismo para compor a formação da gema.

O sangue representa um importante índice de estado fisiológico, patológico e nutricional do organismo (EL-SHINNAWY, 2015) e os níveis séricos de ALT e Albumina aumentaram de forma expressiva, quando houve reposição de suplementação de betaína e colina nas dietas com redução de metionina. E apesar de estarem dentro da faixa normal devem ser levados em consideração em estudos futuros com a utilização de betaína ou colina, na função de otimizar o uso de metionina para síntese proteica. Os níveis séricos de albumina, aqui relatados, estão em acordo com os obtidos por Awad et al. (2014). Estes autores, ao estudarem a suplementação de betaína para patos, não encontraram efeitos da suplementação sobre estes parâmetros bioquímicos.

CONCLUSÃO

A redução de metionina suplementar em dietas de codornas durante a fase de postura não afeta as características de desempenho, a qualidade de ovos e os componentes bioquímicos de sangue, desde que haja inclusão de fontes de betaína e colina a aos níveis de 700 e 500 mg/kg, respectivamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AWAD, A.L.; IBRAHIM, A.F.; FAHIM, H.N.; BESHARA, M.M. Effect of dietary betaine supplementation on growth performance and carcass traits of domyati ducklings under summer conditions. **Egyptian Poultry Science Journal**, v.34, p.1019-1038, 2014.

BAKER, D.H.; FERNANDEZ, S.R.; WEBEL, D.M. AND PARSONS, C.M. Sulfur amino acid requirement and cystine replacement value of broiler chicks during the period three to six weeks post-hatching. **Poultry Science**, v.75, p.737-42, 1996.

EL-SHINNAWY, A.M. Effect of betaine supplementation to methionine adequate diet on growth performance, carcass characteristics, some blood parameters and economic efficiency of broilers. **Journal of Animal and Poultry Production**, v.6, p.27-41, 2015.

GARCIA, E. A.; PIZZOLANTE, C. C. Nutrição de codornas para postura. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL, II, CONGRESSO BRASILEIRO DE COTURNICULTURA, I, 2004. Lavras, **Anais**. Lavras: UFLA, 2004, P, 65-76.

KIDD, M.T.; FERKET, P.R.; GARLICH, J.D. Nutritional and osmoregulatory functions of betaine. **World's Poultry Science Journal**, v.53, n.2, p.125-139, 1997.

LISBOA, M. M. et al. Uso de colina na avicultura. **Revista Eletrônica Nutritime**, v, 11, n,6, p,3755-3759, 2014.

OBEID, R. The Metabolic Burden of Methyl Donor Deficiency with Focus on the Betaine Homocysteine Methyltransferase, **Pathway, Nutrients**, v,5, p,3481-3495, 2013.

RATRIYANTO, A.; INDRESWARI, R.; I NUHRIAWANGSA, A.M.P. Effects of Dietary Protein Level and Betaine Supplementation on Nutrient Digestibility and Performance of Japanese Quails, **Brazilian Journal of Poultry Science**, v,19, n,3, p,445-454, 2017.

RATRIYANTO, A.; MOSENTHIN, R.; BAUER, E.; EKLUND, M.- Metabolic osmoregulatory and nutritional functions of betaine in monogastric animals, **Asian-Australaian Journal Animal Science**, v,22, n,10, p,1461-1476, 2009.

ANTANA, M.H.M.; COSTA, F.G.P.; LUDKE, J.V.; FIGUEIREDO JUNIOR, J.P. Interações nutricionais entre aminoácidos sulfurosos, colina e betaína para aves, **Archivos de Zootecnia**, v,63, p,69-83, 2014.

VIANA, M.T.S.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; BARRETO, S.L.T., CARVALHO D.C.O.; GOMES, P.C. Fontes e níveis de metionina em dietas para frango de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v,38, n,9, p,1751-1756, 2009.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

Os estudos sobre as interações nutricionais entre metionina, colina e betaína no metabolismo são estritamente necessários para manter o equilíbrio da eficiência de produtividade das aves. O uso de tecnologias alimentares como forma de reduzir metionina suplementar dietas não deve ser apenas caracterizada como forma de minimizar os impactos nos custos de produção causados por oscilações de mercado, mas também que o uso alternativo de fontes de grupamento metil possam otimizar o direcionamento da metionina para síntese proteica necessária ao crescimento e produção.

Conhecer as inter-relações entre as principais fontes de grupamentos metil em dieta de aves é um importante passo para a redução dos custos nas formulações, tornando uma aplicação prática na indústria avícola. Apesar de muitas pesquisas apontarem as inter-relações entre esses nutrientes, mais estudos a nível metabólico devem ser realizados com o intuito de determinar os níveis de substituição dessas fontes, avaliando aspectos produtivos, fisiológicos e econômicos.

Aliado a isto, também é importante saber que outros nutrientes podem interferir nas exigências de grupamentos metil no metabolismo celular, como é caso de vitamina B6, B12 e ácido fólico na dieta, em que são direcionados para formação da enzima betaína homocisteína metiltransferase mediadora da metilação da metionina.

Baseado nos resultados desta pesquisa é necessário que se estabeleça a adequada relação entre metionina, colina e betaína nas dietas de aves avaliando minuciosamente cada critério. Além disso, é fundamental ter atenção especial nos requerimentos específicos de metionina e colina para cada fase de criação, para que as dosagens combinada de betaína possam expressar o seu verdadeiro potencial nutricional. Assim, é possível tornar mais seguras as recomendações viáveis nas formulações de rações.