

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**RELAÇÕES DE AMINOÁCIDOS SULFURADOS: LISINA
DIGESTÍVEIS E DIFERENTES FONTES DE BETAÍNA NAS DIETAS
PRÉ-INICIAL E INICIALDE FRANGOS**

Pedro Moraes Rezende

Orientador: Prof. Dr. José Henrique Stringhini

GOIÂNIA

2015

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Pedro Moraes Rezende		
E-mail:	pedromrgo@hotmail.com		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? ☒ Sim ☐ Não			
Vínculo empregatício do autor			
Agência de fomento:			
País:	Brasil	UF:	GO
CNPJ:			
Sigla:			
Título:	Relações de aminoácidos sulfurados: lisina digestíveis e diferentes fontes de betaina nas dietas pré-inicial e inicial de frangos		
Palavras-chave:	aditivo alimentar, avicultura, desempenho, nutrição.		
Título em outra língua:	Sulfur amino acids relations : lysine and different sources betaine in pre-starter and starter diets of broilers		
Palavras-chave em outra língua:	food additive, performance, poultry, nutrition.		
Área de concentração:	Produção Animal		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	(07/05/2015)		
Programa de Pós-Graduação:	Zootecnia		
Orientador (a):	José Henrique Stringhini		
E-mail:	jhstring@hotmail.com		
Co-orientador (a):*	Maria Auxiliadora Andrade		
E-mail:	maa@ufg.br		
Co-orientador (a):*	Marcos Barcellos Café		
E-mail:	mcafe@vet.ufg.br		

*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ **SIM** ☐ **NÃO**¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Pedro Moraes Rezende
Assinatura do (a) autor (a)

Data: 06 / 07 / 2015.

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

PEDRO MORAES REZENDE

**RELAÇÕES DE AMINOÁCIDOS SULFURADOS: LISINA
DIGESTÍVEIS E DIFERENTES FONTES DE BETAÍNA NAS DIETAS
PRÉ-INICIAL E INICIAL DE FRANGOS**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária e
Zootecnia da Universidade Federal de Goiás para
obtenção do título de Mestre em Zootecnia

Área de Concentração:

Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. José Henrique Stringhini - EVZ/UFG

Comitê de Orientação:

Prof^a. Dr^a. Maria Auxiliadora Andrade - EVZ/UFG

Prof. Dr. Marcos Barcellos Café - EVZ/UFG

GOIÂNIA

2015

Ficha catalográfica elaborada automaticamente
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Moraes Rezende, Pedro

Relações de aminoácidos sulfurados: lisina digestíveis e diferentes fontes de betaina nas dietas pré-inicial e inicial de frangos [manuscrito] / Pedro Moraes Rezende. - 2015. xiv, 60 f.

Orientador: Prof. Dr. José Henrique Stringhini; co-orientadora Dra. Maria Auxiliadora Andrade; co-orientador Dr. Marcos Barcellos Café. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Goiânia, 2015.

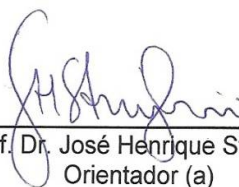
Bibliografia.

Inclui tabelas, lista de tabelas.

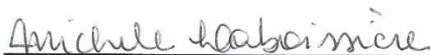
1. aditivo alimentar. 2. avicultura. 3. desempenho. 4. nutrição. I. Stringhini, José Henrique, orient. II. Andrade, Maria Auxiliadora, co orient. III. Título.

PEDRO MORAES REZENDE

Dissertação defendida e aprovada em **07/05/2015**, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



Prof. Dr. José Henrique Stringhini
Orientador (a)



Profa. Dra. Michele Laboissière – UEG/São Luis M. Belos-GO



Profa. Dra. Fabyola Barros de Carvalho – DPA/EVZ/UFG

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Laurita Gonçalves de Moraes Rezende e Ailton Rodrigues Rezende,

À Natasha Gomes Moreira Abreu,

Ao meu irmão, Eduardo Moraes Rezende.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao prof. Dr. José Henrique Stringhini pela dedicação, paciência e amizade nestes dois anos de orientação de mestrado. Seus ensinamentos e conselhos foram de grande valia, os levarei por toda a vida.

Aos co-orientadores, prof. Dra. Maria Auxiliadora Andrade e prof. Dr. Marcos Barcellos Café pelas sugestões, ensinamentos e ajuda na condução do meu experimento.

Aos professores do Departamento de Produção Animal, em especial a Dra. Fabyola Barros de Carvalho e o Dr. Emmanuel Arnhold pela disponibilidade e contribuições.

Aos colegas de pós-graduação e de graduação Ana Flávia, Genilson, Poliana, Caniggia, Januária, Maria Juliana, Liz, Bruno, Luís, Natalia, Fernanda, Adriene, Jaqueline, Isadora, Isabela, Rosiele a todos os estagiários do setor de avicultura, em especial Meyre e Larissa, pela amizade e colaboração na condução dos experimentos.

Aos funcionários da Escola de Veterinária e Zootecnia, Éder, Helton, Reginaldo, Germano, Filipe, Charles, Nilson pelo apoio e serviços prestados.

À Universidade Federal de Goiás, em nome do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade desta qualificação profissional.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa durante o período de realização deste mestrado.

À empresa AB Vista, em especial: Tiago e Gilson pelo voto de confiança depositada, pelo financiamento desta pesquisa e doação de produtos.

À empresa BRF, em especial: Rafael, pela ajuda na realização dos experimentos ao doar as aves e ingredientes para a fabricação das rações.

À empresa São Salvador Alimentos, em especial: Roberto Jardim Filho pela doação das aves do segundo experimento.

A todos que contribuíram para o desenvolvimento do experimento de forma direta ou indireta.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

	CONSIDERAÇÕES GERAIS	15
1.	EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE METIONINA + CISTINA	16
2.	BETAÍNA.....	16
2.1.	Definição	16
2.2.	Betaína Natural e Sintética	17
2.3.	Doação de grupo metil	19
2.4.	Redução de stress celular.....	20
	REFERÊNCIAS.....	22

CAPÍTULO 2

	DESEMPENHO E PERFIL BIOQUÍMICO SANGUÍNEO DE FRANGOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO RELAÇÕES CRESCENTES DE AMINOÁCIDOS SULFURADOS:LISINA DIGESTÍVEIS E FONTES DE BETAÍNA NAS FASES PRÉ-INICIAL E INICIAL	25
1.	INTRODUÇÃO	27
2.	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
2.1.	Dietas experimentais	29
2.2.	Manejo experimental.....	29
2.3.	Medidas de desempenho.....	29
2.4.	Perfil bioquímico sanguíneo	30
2.5.	Delineamento estatístico.....	31
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.	CONCLUSÃO	46
	REFERÊNCIAS.....	46

CAPÍTULO 3

	METABOLIZABILIDADE, HISTOMORFOMETRIA DE SEGMENTOS INTESTINAIS E BIOMETRIA DE ÓRGÃOS DO APARELHO DIGESTÓRIO DE FRANGOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES RELAÇÕES DE AMINOÁCIDOS SULFURADOS:LISINA DIGESTÍVEIS E DUAS FONTES DE BETAÍNA NAS FASES PRÉ-INICIAL E INICIAL	49
1.	INTRODUÇÃO	51
2.	MATERIAL E MÉTODOS	52
2.1.	Dietas experimentais	52
2.2.	Metabolizabilidade de nutriente.....	53
2.3.	Biometria de órgãos do aparelho digestório	54
2.4.	Histomorfometria de segmentos intestinais.....	54
2.5.	Delineamento estatístico.....	55
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4.	CONCLUSÃO	70
	REFERÊNCIAS.....	70
CAPÍTULO 4		
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	73

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

TABELA 1.	Composição percentual e nutricional calculada para as rações basais pré-inicial (1-7 dias) e inicial (8-21 dias)	28
TABELA 2.	Desempenho de frangos alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína no período de 1 a 7 dias de idade.....	31
TABELA 3.	Desempenho de frangos alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína no período de 8 a 21 dias de idade	32
TABELA 4.	Desempenho de frangos alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína no período de 1 a 21 dias de idade.....	34
TABELA 5.	Níveis bioquímicos séricos de Na, K, Cl e Ácido úrico de frangos aos 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína.....	36
TABELA 6.	Níveis bioquímicos séricos de proteínas totais, albumina, globulina, albumina:globulina de frangos aos 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína	37
TABELA 7.	Níveis bioquímicos séricos de colesterol, triglicérides, HDL, VLDL, LDL de frangos aos 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína	39
TABELA 8.	Níveis bioquímicos séricos de Na, K, Cl e Ácido úrico de frangos aos 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína	41
TABELA 9.	Níveis bioquímicos séricos de proteínas totais, albumina, globulina, albumina:globulina de frangos aos 21 dias de idade alimentados com dietas	

	contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína	43
TABELA 10.	Níveis bioquímicos séricos de colesterol, triglicérides, HDL, VLDL, LDL de frangos aos 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína	45

CAPÍTULO 3

TABELA 1.	Composição percentual e nutricional calculada para as rações basais pré-inicial (1-7 dias) e inicial (8-21 dias).....	52
TABELA 2.	Coeficientes de metabolizabilidade de frangos alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína no período 4 a 7 dias de idade	55
TABELA 3.	Coeficientes de metabolizabilidade de frangos alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína no período 17 a 21 dias de idade.....	57
TABELA 4.	Biometria de órgãos do trato gastrointestinal e imunológico de frangos com 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína.....	59
TABELA 5.	Biometria de intestino de frangos com 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:Lisina digestíveis e fontes de betaína	60
TABELA 6.	Biometria de órgãos do trato gastrointestinal e imunológico de frangos com 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína.....	61
TABELA 7.	Biometria de intestino de frangos com 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína.....	63
TABELA 8.	Altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta de frangos com 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações de aminoácidos sulfurados:lisina digestíveis e fontes de betaína	65
TABELA 9.	Desdobramento da altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta de frangos com 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína	66

- TABELA 10. Altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta de frangos com 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína..... 68
- TABELA 11. Desdobramento de altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta de frangos com 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína 69

RESUMO

Pesquisas com a utilização da betaína em dietas de frango têm evidenciado seu papel de osmorregulador intestinal em situações de estresse, aumentando a retenção hídrica celular e seu papel como doador de grupo metil nos processos metabólicos. A utilização de aditivos como a betaína vem sendo uma boa alternativa econômica na alimentação de frangos. Objetivou-se com o presente trabalho avaliar crescentes relações de aminoácidos sulfurados: lisina digestíveis em associação com duas fontes de betaína na dieta de frangos nas fases pré-inicial e inicial. O experimento foi conduzido no aviário experimental da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA, inscrito sob número 068/13. Foram alojados 504 pintos machos Cobb 500® com um dia de idade, em baterias de aço galvanizado, com cinco andares, bebedouros e comedouros lineares por divisão e lâmpadas incandescentes para aquecimento. O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados e esquema fatorial 3x4 correspondentes a dietas contendo betaína (sintética e natural) comparadas à testemunha, sem utilização do composto, e diferentes relações de metionina+cistina: lisina digestíveis (57%, 65%, 73% e 81%), com 12 tratamentos, 6 repetições, de 7 aves. As dietas experimentais a base de milho e farelo de soja, isentas de promotores de crescimento e anticoccidianos foram formuladas com exceção dos níveis de metionina+cistina nos devidos tratamentos e a DL-metionina adicionada em substituição ao amido. Foram realizadas medidas de desempenho com a pesagem das aves e das dietas no dia do alojamento e com 7, 14 e 21 dias de idade determinando o peso médio final, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. Foi coletado o sangue das aves para o perfil bioquímico sanguíneo dos níveis séricos de Na⁺, K⁺, Cl⁻, albumina, proteínas totais, colesterol, triglicerídeos, HDL, VLDL, LDL e ácido úrico. Para a metabolizabilidade de nutrientes foi utilizado a coleta total de excretas de 4 a 7 dias e de 17 a 21 dias de idade, determinando os coeficientes de matéria-seca, nitrogênio e nitrogênio retido e balanço de nitrogênio. Foram realizadas necropsias em pintos com 7 e 21 dias de idade, período em que foram coletadas amostras do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) para montagem de lâminas histológicas e pesagem dos órgãos do trato gastrointestinal (TGI). Na histomorfometria foi verificada a altura de vilosidade, a profundidade de cripta e a relação vilosidade:cripta de duodeno, jejuno e íleo. Os dados foram submetidos à análise de variância ($P < 0,10$) e aplicada a análise de regressão polinomial para as relações de metionina+cistina: lisina digestíveis. Embora não havendo diferença expressiva na utilização das fontes de betaína, pode-se verificar o efeito poupador de metionina, pois as aves alimentadas com as menores relações de metionina+cistina: lisina digestíveis apresentaram pesos superiores quando suplementadas com betaína, em especial a fonte de betaína natural. Verificou-se interação positiva da betaína sobre as relações Met+Cis:Lys digestíveis para perfil bioquímico sanguíneo, altura de vilosidade e metabolizabilidade de nutrientes.

Palavras-chave: aditivo alimentar, avicultura, desempenho, nutrição.

ABSTRACT

Researches with the use of betaine in broiler diets have shown its role in intestinal osmoregulation under stress, increasing cell water retention and its role as a methyl group donor in metabolic processes. The use of additives as betaine is a good economical alternative to feed chickens. The objective of this study was to evaluate growing relations of sulfur amino acids: lysine in combination with two sources of betaine in broiler diet in pre-starter and starter phases. The experiment was conducted at experimental poultry of School Veterinary and Animal Science of Federal University of Goiás in Goiânia. The experimental protocol was approved by the Ethics Committee on Animal Use / CEUA registered under protocol. 068/13. 504 chicks Cobb 500® males with a day old were housed, in galvanized steel batteries with five floors, troughs and linear feeders Division and incandescent lamps for heating. The experimental design used was randomized block in a 3x4 factorial design, corresponding to diets containing betaine (synthetic and natural) compared to the control with out use of the compound, and different relations of methionine+cystine: digestible lysine (57%, 65%, 73% and 81%), with 12 treatments, 6 replicates of 7 birds. The experimental diets of corn and soybean meal, free from growth promoters and anticoccidial, were formulated with the exception of methionine and cystine levels in the appropriate treatments, and the DL-methionine added to replace the starch. Performance was measured with the weighing of birds and diets on the accommodation and 7, 14 and 21 days of age, determining the average final weight, weight gain, feed intake and feed conversion. For the blood biochemical profile, blood was collected for determination of serum Na⁺, K⁺, Cl⁻, albumin, globulin, albumin:globulin, protein, cholesterol, triglycerides, HDL, VLDL, LDL and uric acid. For metabolizability of nutrients was used the total excreta collection 4-7 days and 17-21 days of age, determining the coefficients of raw dry, nitrogen and nitrogen retained and nitrogen balance. Necropsies were done on chicks with 7 and 21 days of age, during which time samples were collected from the small intestine (duodenum, jejunum and ileum) for mounting histological slides and weighing the organs of the gastrointestinal tract (GIT). For histomorphometry, was checked villus height, crypt depth and villous:crypt duodenum, jejunum and ileum. Data were subjected to analysis of variance ($P < 0,10$) and applied to polynomial regression analysis for methionine+ cystine: lysine. Although there was no expressive difference in the use of betaine sources, you can check the sparing effect of methionine, as the birds fed the lower methionine+ cystine: lysine showed higher weights when supplemented with betaine, in particular the source of natural betaine. There was a positive interaction of betaine on the Met+Cys relations: Lys digestible for blood biochemistry profile, villus height and metabolization of nutrients.

Keywords: food additive, performance, poultry, nutrition.

CAPÍTULO 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A avicultura de corte é considerada uma atividade dinâmica e quando associada ao melhoramento genético e à nutrição torna-se especializada na produção de alimento seguro, animais com alto potencial para ganho de peso, rendimento de carcaça, baixa conversão alimentar e melhor produção nos galpões industriais.

As exigências nutricionais das aves mudam conforme as características desejadas e requerem constante atualização. O conceito da relação ideal de aminoácidos, proteína ideal, mantém-se firme nos dias de hoje, a metodologia utilizada pelas Tabelas Brasileiras estimam a exigência de lisina (Lys) para aves como sendo o aminoácido padrão (100%) e as exigências de outros aminoácidos essenciais são calculadas a partir desta. As dietas mais equilibradas, nas proporções exatas de aminoácidos em relação à idade e à necessidade do animal permitem melhor desempenho das aves, minimizando a excreção de nitrogênio no ambiente e evitando desperdício de nutrientes^{1,2}.

A ração é o item que mais agrega valor, sendo indispensável na produção animal. Numa ração de qualidade deve conter todos os nutrientes necessários para o desenvolvimento ou manutenção do organismo animal. Na formulação das rações para aves são utilizados o milho e farelo de soja como fontes de energia e proteína, respectivamente. Apesar de serem excelentes fontes de aminoácidos essenciais, esses ingredientes podem resultar em dietas deficientes em metionina e outros aminoácidos prejudicando o desempenho da ave².

O custo de produção na alimentação do frango tem aumentado consideravelmente o uso dos aminoácidos sintéticos na ração em especial os sulfurados (metionina e cistina) e tem forçado nutricionistas de empresas a buscarem novas alternativas que possam reduzir a inclusão de metionina em rações de frangos.

A utilização de aditivos, como a betaína, pode ser uma boa alternativa na redução dos custos de produção na dieta para frangos, por reduzir os níveis de inclusão de DL-metionina (aminoácido sintético limitante em rações para aves à base de milho e farelo de soja) e de colina, oferecendo potencial zootécnico semelhante às rações convencionais. Pesquisas com a utilização da betaína têm evidenciado seu papel de osmoprotetor intestinal em situações de estresse celular e de doador de radical metil. Dessa forma, o papel da betaína como aditivo alimentar na redução de custos na produção e benefícios proporcionados pela molécula da betaína evidenciam sua importância.

1. EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE METIONINA + CISTINA

A metionina (Met) é o primeiro aminoácido limitante em rações para aves à base de milho e farelo de soja devendo ser suplementado na forma sintética, DL-metionina, para obter maior produtividade^{3,4,5}. A metionina desempenha um papel importante no metabolismo das aves como doador de grupos metil, participação da síntese de proteína e também no fornecimento de enxofre para a síntese de outros componentes químicos. Quando suplementada na ração de frangos promove uma ação positiva sobre a concentração da proteína tissular, melhor rendimento de carcaça, rendimento de peito e redução do teor de gordura abdominal.

A inclusão de DL-metionina nas rações para aves pode ser convertida em cistina (Cis) no organismo. A cistina é importante na formação da pele, penas e pelos, e contribui para o aumento dos níveis de aminoácidos sulfurados (Metionina+Cistina) nas rações⁵. Rostagno et al.² recomendaram relações de metionina+cistina: lisina digestível de 72% para a fase de 1 a 21 dias de idade.

O nível adequado de metionina+cistina é dependente da finalidade de produção, da genética, da idade do animal, do ambiente e dos custos de produção⁶. Quando os níveis na dieta são insuficientes, há redução no ganho de peso, na eficiência alimentar e no teor de proteína na carcaça, estimulando o consumo de ração pelas aves, aumentando a energia adicional causando deposição de gordura corporal⁷.

2. BETAÍNA

2.1. Definição

A betaína é um trimetil derivado do aminoácido glicina, possui uma estrutura bipolar e radical metil (CH₃) quimicamente reativos capazes de doar e participar de reações metabólicas. A betaína é um importante componente de muitos alimentos, incluindo grão de milho, farelo de trigo, espinafre, beterraba e frutos do mar, podendo ser biossintetizada pela oxidação da colina na mitocôndria de organismos, mas esta conversão pode ser ineficiente e variável^{8,9}. Devido sua elevada solubilidade em água, estudos mostram que ela está presente nos tecidos como osmólito, é utilizada por vários organismos para compensar o stress celular e se adaptar em meios de alta salinidade, altas e baixas temperaturas, estabilizando macromoléculas contra sódio, ureia e desnaturação celular pelo calor e gelo¹⁰.

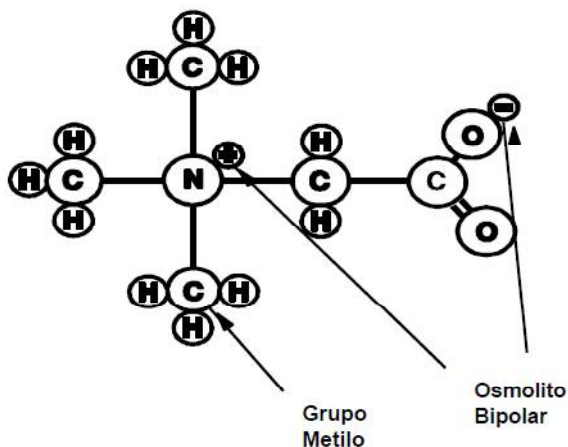


Figura 1. Estrutura química da betaína⁸.

É um aditivo que poupa a utilização de metionina nos processos metabólicos em reações de metilação do DNA, RNA, membranas celulares lipídicas, na síntese da própria metionina, de carnitina e creatina e oferece potencial zootécnico semelhante nas rações de frangos de corte¹¹. Os níveis de aminoácidos utilizados na suplementação podem afetar os demais aminoácidos, uma relação satisfatória de aminoácidos visa menor perda energética da dieta e evita o desbalanço entre os nutrientes, a betaína pode ser utilizada para esse fim, atuando no balanço de aminoácidos^{7,12}.

Também, a betaína pode atuar como osmoprotetor da mucosa intestinal reduzindo a demanda energética para manutenção da água celular, muito importante em situações de desafio como a coccidiose em que o frango desenvolve um quadro de diarreia e de desidratação, reduzindo sua digestão e absorção de nutrientes^{7,13}.

2.2. Betaína Natural e Sintética

Os estudos com betaína na avicultura iniciaram-se nos anos de 1940 e as atuais conclusões sobre a inclusão da betaína na alimentação das aves mostraram efeitos positivos sobre o crescimento destas^{13, 14}.

A betaína pode ser encontrada em formas purificadas como anidro, monofosfato e cloridrato de betaína, sendo este produzido sinteticamente na forma natural como betaína anidra ($C_5H_{11}NO_2$), extraída como subproduto do processamento da beterraba açucareira mediante processo de separação cromatográfica e na forma sintética como cloridrato de

betaína ou betaína HCL ($C_5H_{11}NO_2 \cdot HCL$) através de síntese química, a partir do ácido cloroacético e trimetilamina^{15,16}.

Os produtos comerciais utilizados como fontes de betaína normalmente são recomendadas no nível de 1 kg/ton de ração nas fases pré-inicial e inicial, e 0,75 kg/ton de ração nas fases de crescimento e final. Na fase pré-inicial, a betaína normalmente é adicionada à ração já formulada, objetivando a melhora do desempenho e nas demais fases são utilizadas na formulação da ração, substituindo parte de metionina e totalmente a colina¹⁷.

De acordo com resultados obtidos por Cretton & Van der Aa¹⁵, as propriedades nutricionais da betaína anidra e cloridrato de betaína são semelhantes, mas diferem quanto à sazonalidade e custos de fabricação, já que a betaína sintética não é sazonal e é considerada fonte mais barata e de fácil disponibilidade em comparação à betaína natural na fabricação de rações. No entanto, apresenta alta capacidade de higroscopicidade, propiciando processos de cristalização que impedem a qualidade de mistura dos nutrientes, limitando sua aplicação em fábricas de rações.

A betaína natural é a mais indicada para alimentação de aves segundo relatos de Irazusta¹⁸, por não deixar resíduos nos produtos de origem animal, diferente do percebido com utilização da betaína sintética que pode apresentar resíduos de TMA (trimetilamina) causando irritação na membrana da célula. Segundo o autor, a fonte natural tem nível constante, consistente e superior a 95% de betaína, com aproximadamente 99% de solubilidade em água e rápida captação de água a nível celular. Enquanto a fonte sintética é inferior a 75% de betaína com apenas 50% de solubilidade em água.

A quantidade de suplementação da betaína depende da concentração dos grupos metílicos como a metionina, a colina e o ácido fólico, e da temperatura ambiente adequada, da integridade intestinal e do possível desafio da coccidiose, obtendo melhor resposta em dietas com baixo nível de metionina e reduzindo a necessidade de grupos metílicos. A inclusão da betaína na dieta de frangos está entre 0,05 e 0,1% na ração e estudos evidenciaram que é possível substituir de 25% a 50% de metionina pela betaína, sem danos ao desempenho^{15,19}.

Hruby²⁰ constatou em seus estudos que o fornecimento de betaína natural nas rações de aves submetidas a desafios ambientais, melhorou a conversão alimentar e aumentou o rendimento do peito de frango e Sun et al.²¹ constataram que o uso de 25% da suplementação da betaína natural em substituição da metionina, melhorou o rendimento na carne de peito de frango e reduziu o teor de gordura no fígado.

Pereira et al.²² avaliaram um complexo de enzimas (protease, xilanase e amilase) e o uso da betaína natural em rações de frangos de corte e não obtiveram diferença das variáveis analisadas com 1 a 7 dias de idade. Porém, os autores observaram redução de consumo no período de 1 a 21 dias de idade, sem afetar o ganho de peso e a conversão alimentar, e atribuíram essa alteração no consumo de ração à redução dos níveis de metionina+cistina.

2.3. Doação de grupo metil

As principais fontes de grupo metil nas dietas são a metionina, a colina e a betaína, importantes nos processos metabólicos em reações de metilação do DNA, RNA, membranas celulares lipídicas, na síntese da própria metionina, de carnitina e de creatina, no aumento da deposição muscular da carcaça. Estas fontes não são igualmente disponibilizadas e a betaína atua como doadora, diferente das outras fontes que precisam ser transformadas²³.

A betaína tem função de ser doadora de grupos metil em processos metabólicos (Figura 2) e principalmente por exercer papel importante no processo de remetilação da homocisteína em metionina. Estudos bioquímicos identificaram a capacidade da betaína natural e sintética de fornecer grupos metil e que estes doam homocisteína para formar metionina, e finalmente produzir a S-adenosilmetionina. A betaína então poupa a metionina, que é um doador de metil, através da reciclagem de homocisteína^{24,25,13}.

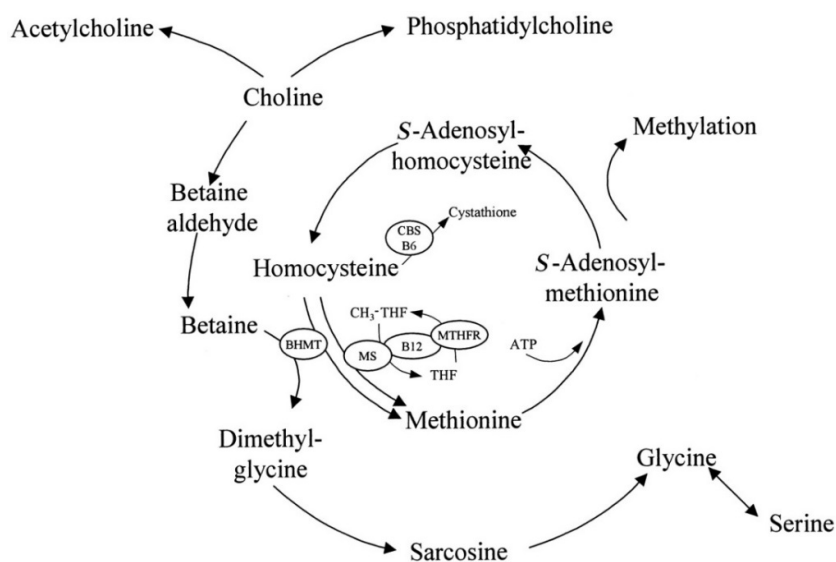


Figura 2. Transmetilação da betaína no ciclo da metionina²⁶.

B6, vitamin B-6; B12, vitamin B-12 (cobalamin); BHMT, betaine homocysteine methyltransferase; CBS, cystathionine β -synthase; MS, methionine synthase; MTHFR, methylenetetrahydrofolate reductase; THF, tetrahydrofolate; CH₃-THF, 5-methyltetrahydrofolate.

O processo de remetilação da homocisteína em metionina é uma reação imprescindível para a saúde animal, pois as aves como outros animais são intolerantes a elevados níveis plasmáticos e urinários de homocisteína²⁷. Van Wettete et al.²⁸ observaram em suínos a redução de homocisteína no sangue de porcas em gestação, a partir da inclusão de betaína na dieta, o que refletiu positivamente sobre a sobrevivência embrionária e diminuição do estresse térmico da fêmea.

O consumo inadequado de grupos metil no organismo, ou quando a concentração de metionina é deficiente na dieta, se torna difícil a formação de metionina corporal pela falta de grupo metil (hipometilação), provocando distúrbios no metabolismo das proteínas hepáticas, determinados pela alta concentração de homocisteína plasmáticas e diminuição das concentrações de S-adenosilmetionina^{26,29}. Em virtude do elevado poder de transmetilação, a betaína possibilita a substituição parcial da metionina, nas dietas de frangos, perus e codornas, com conseqüente redução dos custos com alimentação.

Em contrapartida, alguns trabalhos na literatura discutem o real benefício da suplementação da betaína, porque não identificaram resultados satisfatórios na substituição total ou parcial de metionina por betaína sobre os parâmetros de desempenho, e, portanto, consideraram mais sensato, ajustar a relação ideal de aminoácidos sulfurados digestíveis na dieta^{30,31,32,33}.

2.4. Redução de estresse celular

Apesar de melhorias em instalações e sistemas de manejo, as variações climáticas ainda caracterizam um dos principais entraves para a produção animal. Quando expostas às altas temperaturas, as aves tendem a aumentar o consumo de água para promover a termorregulação e conseqüentemente garantir sua sobrevivência. Nesse período, as aves reduzem o consumo de ração e perdem peso, o que afeta diretamente a produtividade do lote.

O estresse térmico ambiental vivenciado pelas aves pode ser amenizado com o uso de aditivos alimentares como a betaína, que possui propriedades osmóticas que ajudam a manter o equilíbrio hídrico celular, diminuindo a demanda energética do animal para manter uma adequada hidratação celular.

A membrana celular sofre alteração ao passar por estresse osmótico ou por desafio imunológico, pois há um aumento do pH intestinal, tornando-a um meio hipertônico. Neste processo, a alta concentração de íons sódio no interior da célula promove uma reação de retirada de íons potássio para fora da célula, ocorrendo à desidratação do animal³⁴. A

utilização da betaína em meio salino atrai moléculas de água para o interior da célula e consequentemente, aumenta a concentração de potássio³⁴.

A betaína apresenta a função de ser um osmólito protetor, acumulado nos tecidos para auxiliar na regulação do volume hídrico celular e na bomba de sódio-potássio. A função osmótica ajuda a manter a membrana mucosa do intestino durante o estresse de calor e distúrbios digestivos e aumenta a atividade anabólica e a integridade da membrana celular¹⁹.

Os aminoácidos e a betaína são absorvidos e prontamente liberados pelo intestino delgado de forma rápida. A betaína é absorvida principalmente no duodeno, o transporte ocorre na borda em escova da célula epitelial, na presença do gradiente de sódio; sua acumulação dentro da célula se dá por meio de sistemas de transporte ativo (Na^+ e Cl^-) e passivo (Na^+)³⁴. A betaína sintética mostrou-se também como inibidora de apoptose celular e redutora do gasto de energia nas células do trato gastrointestinal¹⁵.

Em pesquisas que envolvem o desafio coccidiano, inoculados com *Eimeria acervulina*, Teixeira et al.⁷ avaliaram tratamentos com salinomicina e penicilina G potássica e outro com inclusão de betaína natural (0,00; 0,05; 0,10 e 0,15%) em rações para frangos e concluíram que a resposta da betaína foi semelhante aos medicamentos de controle da coccidiose. Augustine et al.³⁵ inocularam a mistura de *E. acervulina*, *E. maxima* e *E. tenella* aos 14 dias de idade em frangos de corte, na adição de 0,15% de betaína sintética e obtiveram melhora no ganho do peso vivo e na conversão alimentar.

2.5. Fator lipotrófico e redução da gordura abdominal

Em humanos, a obesidade, o diabetes e o consumo de álcool o que resulta no metabolismo inadequado de gorduras hepáticas, levando a um acúmulo de gordura no fígado (esteatose), e também pode causar distúrbios nos níveis de lipídios e/ou lipoproteínas no sangue (dislipidemia). A betaína pode ser considerada como fator lipotrófico, que reduz a gordura no fígado e por agir na diminuição destas patologias por meio de doação de grupos metil^{26,36}.

A betaína tem a capacidade de agir como fator lipotrófico e de redução da gordura abdominal na carcaça dos animais, pois a betaína possui aptidão em ajudar o fígado na queima da gordura³⁷.

Em pesquisas recentes, foram relatados que a betaína em aves de produção teve bons resultados de digestão de nutrientes, desempenho do animal, metabolismo e magreza da carcaça^{15,38}. Sun et al.²¹ relataram que a substituição de 25% de metionina pela betaína

sintética resultou no aumento do rendimento e do teor de proteína da carne do peito e redução dos conteúdo de gordura abdominal.

Em controvérsia, estudos apontam que essa propriedade de melhora de carcaça é devido a disponibilidade dos aminoácidos sulfurados (metionina + cistina) que contribuem para a melhor deposição proteica e redução da gordura abdominal.

Assim, objetivou-se com este estudo avaliar e incrementar o debate a respeito do uso da betaina como poupadora de aminoácidos sulfurados quando da sua suplementação em rações de frangos, tendo como variáveis de estudo os dados de desempenho, perfil bioquímico sanguíneo, biometria de órgãos do trato gastrointestinal, histomorfometria de segmentos intestinais e dados metabólicos medidos com a utilização de fontes natural e sintética de betaina em dietas com conteúdo reduzido de aminoácidos sulfurados na base digestível.

REFERÊNCIAS

1. Bertechini AG. Nutrição de monogástricos. 2a ed. Lavras: UFLA; 2012. 373p.
2. Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT, Euclides RF. Tabelas Brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 3a ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. 252p.
3. Amarante Júnior VS, Costa FGP, Barros LR.; Nascimento GAJ, Brandão PA, Silva JHV, Pereira WE, Nunes RV, Costa JS. Níveis de metionina + cistina para frangos de corte nos períodos de 22 a 42 e de 43 a 49 dias de idade. R. Bras. Zootec. 2005; 34(4):1195-1201.
4. Nascimento, DCN. Exigências de lisina e de metionina + cistina digestíveis para aves de corte da linhagem ISA LABEL em sistema semi-confinado. [Dissertação] Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias; 2007.
5. Oliveira Neto AR, Oliveira RFM, Donzele JL, Cecon PR, Vaz RGMV, Gasparino E. Níveis de metionina + cistina para pintos de corte mantidos em ambiente termoneutro. R. Bras. Zootec. 2005; 34(6):1956-1962.
6. Viana MTS, Albino LFT, Rostagno HS, Barreto SLT, Carvalho DCO, Gomes PC. Fontes e níveis de metionina em dietas para frango de corte. R. Bras. Zootec., 2009; 38 (9): 1751-1756.
7. Teixeira M. Anátomo-clínica e biologia em frangos de corte experimentalmente infectados com *eimeria acervulina* e suplementados com betaina. [Tese] Seropédica: Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2007.
8. Guérin M. Uso de betaina en alimentos acuícolas: atractantes, osmoreguladores o metabolitos lipotropicos? In: Civera-Cerecedo R, Pérez-Estrada CJ, Ricque-Marie D, Cruz-Suárez LE. Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre. La Paz, México. 2000. p 492-508.
9. Zeisel SH, Mar MH, Home JC, Holden JM. Concentrations of choline-containing compounds and betaine in common foods. J. Nutr. 2003; 133 (5): 1302-1307.

10. Randall R, Lever M, Peddie BA, Chambers ST. Natural and synthetic betaines counter the effects of high NaCl and urea concentrations. *Biochim. Biophys. Acta.* 1996; 1291:189-194.
11. Stryer L. In: *Biochemistry*. 4a ed., Freeman, New York, 1995. p 1064.
12. Atencio A, Albino LF, Rostagno HS. Exigências de metionina mais cistina para frangos de corte machos em diferentes fases de criação. *R. Bras. Zootec.* 2004; 33 (5): 1152-1166.
13. Kidd MT, Ferket PR, Garlich JD. Nutritional and osmoregulatory functions of betaine. *Worlds Poult Sci J.* 1997; 53 (2): 125-139.
14. Almquist HJ, Grau CK. Interrelation of methionine, choline, betaine and arsenocholine in the chick. *Jn. Nutrition.* 1943; 263-269.
15. Cretton BS; Arno Van der Aa. Betaine hydrochloride: An essential nutrient in broiler diets. *All about feed.* 2012; 20(2): 14-16.
16. Efsa Feedap Panel (EFSA panel on additives and products or substances used in animal feed). Scientific opinion on the safety and efficacy of betaine (betaine anhydrous and betaine hydrochloride) as a feed additive for all animal species based on a dossier submitted by VITAC EEIG. *EFSA Journal.* 2013; 11(5): 1-23.
17. Pereira PWZ. Avaliação de complexo enzimático e betaína natural nas rações de frango de corte criados em aviário comercial. [Dissertação] Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; 2008.
18. Irazusta A. Betaína natural y betaína sintética (clorhidrato). Comparaciones. Buenos Aires; Engormix, 2012. Artículo técnico. [Acesso em 02 jul 2013]. Disponível em: <http://www.engormix.com/MA-avicultura/nutricion/foros/betaina-natural-betaina-sintetica-t24045/141-p0.htm>.
19. Rama Rao SV, Raju MVLN, Panda AK, Poonam Saharia, Shyam Sunder G. Effect of supplementing betaine on performance, carcass traits and immune responses in broiler chicken fed diets containing different concentrations of methionine. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2011; 24 (5): 662-669.
20. Hruby M. Increasing breast meat yield in broilers and turkeys. *Poultry International*, Watt Publishing Company, 2002.
21. Sun H, Yang WR, Yang ZB, Wang Y, Ziang SZ, Zhang GG. Effects of betaine supplementation to methionine deficient diet on growth performance and carcass characteristics of broilers. *Am. J. Anim. Vet. Sci.* 2008; 78-84.
22. Pereira PWZ, Menten JFM, Racanicci ABT, Silva CS, Rizzo PV. Avaliação de complexo enzimático e betaína natural nas rações de frango de corte criados em aviário comercial. *R. Bras. Zootec.* 2010; 39 (10): 2230-2236.
23. Finkelstein JD. Methionine metabolism in mammals. *J Nutr Biochem.* 1990;1:228-237.
24. Lever M, Slow S. The clinical significance of betaine, an osmolyte with a key role in methyl group metabolism. *Clin Biochem.* 2010; 43(9): 732-744.
25. Likes R, Madl, Ronald L, Zeisel SH, Craig SAS. The betaine and choline content of a whole wheat flour compared to other mill strams. *J. Cereal Sci.* 2007; 46(1): 93-95.
26. Craig SAS. Betaine in human nutrition. *Am J. Clin. Nutr.* 2004; 80(3):539-549.

27. Neves LB; Macedo DM, Lopes AC. Homocisteína. J. Bras. Patol. Med. Lab. 2004;40 (5):311-320.
28. Van Wettere WHEJ, Herde P, Hughes PE. Supplementing sow gestation diets with betaine during summer increases litter size of sows with greater numbers of parities. Anim. Reprod. Sci. 2012; 132(1-2): 44–49.
29. Eklund M, Bauer E, Wamatu J, Mosenthin R. Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. Nutrition Research Reviews. 2005; 18: 31–48.
30. Rostagno HS, Pack M. Can betaine replace supplemental L-methionine in broiler diets? J. Appl. Poultry Res. 1996; 5: 150-154.
31. Schutte JB, De Jong J, Smink W, Pack M. Replacement value of betaine for DL-methionine in male broiler chicks. Poult. Sci. 1997; 76: 321-325.
32. Rodrigueiro R. O que esperar da betaína como fonte poupadora da DL-metionina suplementar. Serviços Técnicos Evonik Degussa Brasil. 2010. [Acesso em 01 jul 2013]. Disponível em: http://www.avisite.com.br/cet/img/20101105_evonik.pdf.
33. Esteve-Garcia E, Mack S. The effect of DL-methionine and betaine on growth performance and carcass characteristics in broilers. Animal Feed Science and Technology. 2000; 87 (1):85-93.
34. Maiorka A, Macari, M. Absorção de minerais. In: Macari M, Furlan RL, Gonzales E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: Funep; 2002. p. 167-173.
35. Augustine PC, Mcnaughton, JL, Virtanen E, Rosi L. Effect of betaine on the growth performance of chicks inoculated with mixed cultures of avian *Eimeria* species and on invasion and development of *Eimeria tenella* and *Eimeria acervulina* in vitro and in vivo. Poult Sci. 1997; 76:802-809.
36. Domenici FA, Brochado MJF, Martinelli ALC, Rocha, MM.; Cunha SF, Elias Junior J, Zucoloto, S, Meirelles MSS, Vannucchi H. Suplementação de betaína em pacientes com nash: diminuição da esteatose hepática. Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. = J. Brazilian Soc. Food Nutr. 2011; 36: 1-354.
37. Garcia Neto M. Avaliação da biodisponibilidade relativa entre betaína e metionina para frangos de corte. [Tese] Araçatuba: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária; 2004.
38. Ratriyanto A, Mosenthin R, Bauer E, Eklund M. Metabolic, Osmoregulatory and nutritional functions of betaine in monogastric animals. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 2009; 22 (10):1461–1476.

CAPÍTULO 2. DESEMPENHO E PERFIL BIOQUÍMICO SANGUÍNEO DE FRANGOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO RELAÇÕES CRESCENTES DE AMINOÁCIDOS SULFURADOS:LISINA DIGESTÍVEIS E FONTES DE BETAÍNA NAS FASES PRÉ-INICIAL E INICIAL

RESUMO

Objetivou-se com o presente trabalho avaliar crescentes relações de aminoácidos sulfurados:lisina digestíveis em associação com duas fontes de betaína na dieta de frangos nas fases pré-inicial e inicial. O experimento foi conduzido no aviário experimental da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia. Foram utilizados 504 pintos machos Cobb 500® com um dia de idade, que foram alojados em baterias de aço galvanizado, com cinco andares, bebedouros e comedouros lineares por parcela e lâmpadas incandescentes para aquecimento. O delineamento experimental adotado foi blocos casualizados em esquema fatorial 3x4, correspondentes a dietas contendo betaína (sintética e natural) comparadas ao controle, sem utilização do composto, e diferentes relações de metionina+cistina:lisina digestíveis (57%, 65%, 73% e 81%), com 12 tratamentos, 6 repetições de 7 aves. As dietas experimentais à base de milho e farelo de soja, isentas de promotores de crescimento e anticoccidiano foram formuladas sem os níveis de metionina+cistina, a DL-metionina e a betaína (sintética ou natural) foram adicionadas em substituição ao amido nos devidos tratamentos. Foram realizadas medidas de desempenho com a pesagem das aves e das dietas no dia do alojamento e com 7, 14 e 21 dias de idade, determinando o peso médio final, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. Para o perfil bioquímico sanguíneo, foram coletados 5 ml de sangue para determinação dos níveis séricos de Na⁺, K⁺, Cl⁻, albumina, globulina, relação albumina:globulina, proteínas totais, colesterol, triglicerídeos, HDL, VLDL, LDL e ácido úrico. Os dados foram submetidos à análise de variância e aplicada a análise de regressão polinomial para as relações de metionina+cistina:lisina digestíveis. Não foi observada diferença expressiva na utilização das fontes de betaína, mas pode-se verificar o efeito poupador de metionina, pois as aves alimentadas com as menores relações de metionina+cistina:lisina digestíveis apresentaram pesos superiores quando suplementadas com betaína, em especial a fonte de betaína natural. Verificou-se interação positiva da betaína sobre as relações Met+Cis:Lys digestíveis para perfil bioquímico sanguíneo. A suplementação de betaína principalmente a fonte natural reduziu a inclusão de aminoácidos sulfurados na ração sem afetar o desempenho e em perfil bioquímico sanguíneo das aves, sendo possível reduzir os níveis de aminoácidos sulfurados até 65% da relação preconizada pelas tabelas brasileiras.

Palavras-Chave: avicultura, grupamento metil, metionina, cistina, nutrição.

CHAPTER 2. PERFORMANCE AND BLOOD BIOCHEMICAL PROFILE IN BROILERS WITH FED DIETS CONTAINING GROWING RELATIONS OF AMINO ACIDS SULPHUR:LYSINE DIGESTIBLES AND BETAINE SOURCES ON PRE-STARTER AND INITIAL PERIODS

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate growing relations of sulfur amino acids: lysine in combination with two sources of betaine in broiler diet in pre-starter and starter phases. The experiment was conducted in experimental avian School of Veterinary and Animal Science of Federal University of Goiás in Goiânia, were housed 504 chickens Cobb 500® males with a day old, in galvanized steel batteries with five floors, troughs and linear feeders division and incandescent lamps for heating. The experimental design used was randomized block in a 3x4 factorial design, corresponding to diets containing betaine (synthetic and natural) compared to the control with out use of the compound, and different relations of methionine and cystine: digestible lysine (57%, 65%, 73% and 81%), with 12 treatments, 6 replicates of 7 birds. The experimental diets of corn and soy bean meal, free from growth promoters and anticoccidial, were formulated with the exception of methionine and cystine levels in the appropriate treatments, and the DL-methionine added to replace the starch. Performance was measured with the weighing of birds and diets on the accommodation and 7, 14 and 21 days of age, determining the average final weight, weight gain, feed intake and feed conversion. For the blood biochemistry profile, 5 mL blood was collected to determine serum levels of Na⁺, K⁺, Cl⁻, albumin, globulin, A/G, total protein, cholesterol, triglycerides, HDL, VLDL, LDL and uric acid. Data were subjected to analysis of variance ($P < 0,10$) and applied to polynomial regression analysis for methionine + cystine: lysine. There was no expressive difference in the use of sources of betaine, but you can check the sparing effect of methionine, as the birds fed with the lowest ratios of methionine and cystine: digestible lysine showed higher weights when supplemented with betaine, in particular the source natural betaine. There was a positive interaction of betaine on the Met+Cys relations: Lys digestible for blood biochemistry profile. The supplementation of betaine in particular the natural reduced the inclusion of sulfur amino acids in the diet with out affecting the performance and blood biochemistry profile of birds, being possible to reduce the sulfur amino acid levels up to 65% of the established relationship by Brazilian tables.

Key words: poultry, methyl group, methionine, cystine, nutrition.

1. INTRODUÇÃO

A utilização de dietas especializadas nas primeiras semanas de vida do frango de corte é de extrema importância. A necessidade de incluir mais uma dieta na fase de criação do frango foi bastante discutida por pesquisadores e nutricionistas, pois em algumas situações, a pequena quantidade de ração produzida pela fábrica de ração faz com que esta tenha dificuldade em adaptar às novas dietas em sua rotina de trabalho.

Na formulação da dieta pré-inicial, os carboidratos são considerados a principal fonte de energia em virtude da facilidade de sua digestão e absorção. O uso de lipídios é restrito e a energia metabolizável provinda do baixo nível de lipídeo utilizado não altera no consumo de ração na primeira semana. A limitação de óleo na ração é relacionada à reduzida produção da enzima lipase pancreática e à imaturidade da circulação entero-hepática dos pintos, afetando a produção de sais biliares, inviabilizando a digestão da gordura, podendo causar esteatorréia e danos no trato digestivo^{1,2}.

A necessidade de proteína na dieta do pinto nas primeiras semanas de vida em relação ao frango é proporcionalmente maior, o que propicia ganhos de desempenho. Isso ocorre em decorrência da capacidade metabólica de termorregulação da ave recém nascida ser pouco desenvolvida^{3,4}. E o catabolismo dos aminoácidos em excesso causa aumento no calor metabólico, beneficiando as aves neste período¹. Os níveis de sódio na ração de pintos na fase pré-inicial e inicial podem ser superiores aos recomendados para as outras fases, pois geram aumento no consumo de água e ração.

Recomenda-se que as rações para frangos nas primeiras semanas de vida contenham ingredientes de alta digestibilidade na sua formulação, visto que são formuladas, em sua maioria, à base de milho e farelo de soja e suplementadas com aminoácidos (essenciais e não essenciais), vitaminas e minerais⁵.

A betaína é um aditivo alimentar que tem sua utilização demonstrada em várias pesquisas com bons resultados de produtividade, utilizada em diversos animais de produção como aves, suínos e peixes, vêm se destacando em virtude da economia que proporciona na formulação da dieta, com redução dos níveis de inclusão de DL-metionina e substituição total da colina, garantindo o mesmo desempenho⁶.

O estudo das características hematológicas é uma ferramenta bastante útil na avicultura para diagnosticar doenças e alterações fisiológicas. A ambiência no sistema de criação pode alterar os parâmetros fisiológicos da ave e desencadear distúrbios no

metabolismo e na permeabilidade de membrana devido à mudança do pH. Os níveis sanguíneos de sódio (Na^+), potássio (K^+) e cloro (Cl^-) são utilizados na manutenção da pressão osmótica e balanço ácido-base dos líquidos corporais sendo importantes indicadores de estresse calórico⁷.

Em estudo realizado por Awad et al.⁸, os autores verificaram que houve efeito da suplementação de betaína em patos no desempenho das aves no período de postura de 24-40 semanas de idade em condições de verão, e houve aumento em massa de ovos e melhora na conversão alimentar e diminuição significativa dos níveis séricos de colesterol total e o colesterol LDL. Em contrapartida, obteve-se aumento significativo dos níveis de colesterol HDL no sangue com a suplementação com diferentes níveis de betaína.

Na avicultura, as pesquisas de nutrição em frango de corte têm utilizado os produtos comerciais que contém a betaína na forma natural ou sintética, mas ainda persistem muitas dúvidas sobre as diferenças das betaínas disponíveis e os níveis adequados para a substituição da metionina em consideração ao impacto nutricional. No Brasil, o número de pesquisas voltadas aos benefícios da betaína na alimentação de frangos ainda é insuficiente.

Estudos sobre a betaína e sua utilização como aditivo na alimentação de frangos nos parâmetros de desempenho são necessários, visando sua consolidação científica como substituto parcial de DL-metionina nas rações. Dessa forma, com este trabalho objetivou-se determinar a relação adequada de metionina+cistina: lisina digestíveis e a associação de betaína natural ou sintética na ração de frangos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no aviário experimental da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA, inscrito sob protocolo nº 068/13.

Foram alojados 504 pintos machos Cobb 500® com um dia de idade e peso médio inicial de 39g, em baterias de aço galvanizado, com cinco andares, um bebedouro e um comedouro linear por divisão e uma lâmpada incandescente de 60 w para aquecimento. As aves foram submetidas a 12 tratamentos, correspondentes a dietas contendo betaína (sintética

e natural) comparadas à testemunha, sem utilização do composto e diferentes relações de metionina + cistina / lisina digestíveis (57%, 65%, 73% e 81%).

2.1. Dietas experimentais

As dietas experimentais a base de milho e farelo de soja, suplementos vitamínico e mineral foram formuladas seguindo as exigências nutricionais propostas por Rostagno et al.⁵, com exceção dos níveis de metionina+cistina nos tratamentos e a DL-metionina adicionada em substituição ao amido. As rações foram isentas de promotores de crescimento e anticoccidiano, a composição percentual e nutricional para a fase pré-inicial (1 a 7 dias) e inicial (8 a 21 dias) são apresentados na Tabela 1.

A betaína natural e a sintética foram adicionadas no ato da mistura da ração na proporção de 1 kg/ton. Considerando que a betaína natural tem 96% e a sintética 63% de pureza, a quantidade de produto na ração corrigida foi de 1,04 Kg/ton e 1,37Kg/ton, respectivamente.

2.2. Manejo experimental

Antes da chegada do lote, o galpão, as gaiolas e demais equipamentos foram lavados, desinfetados e deixados em vazio sanitário por um período de 15 dias.

O manejo diário incluiu a limpeza diária dos bebedouros como troca de água e abastecimento dos comedouros, realizados duas vezes ao dia. O aquecimento interno do galpão foi monitorado através de verificação de temperatura e umidade relativa do ar, de manejo das cortinas de acordo com a temperatura do ambiente. A iluminação foi constante por meio de lâmpadas incandescentes em cada unidade experimental. As bandejas metálicas forradas com lona plástica foram colocadas sob as gaiolas, para a retirada das excretas.

2.3. Medidas de desempenho

Durante a condução dos experimentos foram realizadas as pesagens dos animais, sobra de ração e registrado a mortalidade diária com o peso das aves mortas, no 1º, 7º, 14º e 21º dias de idade e posteriormente calculados:

– Ganho de peso: calculado pela diferença entre os pesos médios das aves obtidos pelas pesagens, dentro das fases e no período total;

- Consumo de ração: obtido pela diferença entre os valores de ração oferecida no início e as sobras ao final de cada fase, sendo contabilizado o número das aves mortas nos intervalos como critério para correção dos valores de consumo;
- Conversão alimentar: valor obtido pela relação entre o ganho de peso e o consumo de ração, sendo utilizado como critério de correção o peso das aves mortas nas diferentes fases e no período total.

TABELA 1. Composição percentual e nutricional calculada para as rações basais pré-inicial (1-7 dias) e inicial (8-21 dias)

Ingredientes	Pré-inicial	Inicial
Milho	54,65	55,36
Farelo de soja 45%	38,08	37,56
Fosfato bicálcico	1,91	1,76
Óleo de soja	1,76	2,36
Amido	1,00	1,00
Calcário	0,86	0,82
Suplemento vitamínico	0,40	0,40
Suplemento mineral	0,10	0,10
Sal comum	0,28	0,43
Bicarbonato de sódio	0,25	0,25
DL-metionina	0,16	0,09
L-lisina HCL	0,32	0,11
L-treonina	0,12	0,004
L-Valina	0,09	0,00
TOTAL	100,00	100,00
Composição nutricional calculada		
Energia metabolizável (kcal/kg)	2.950	3.000
Proteína (%)	22,50	22,00
Treonina digestível	0,86	0,74
Metionina+Cistina digestível (%)	0,76	0,69
Metionina digestível (%)	0,47	0,40
Lisina digestível (%)	1,33	1,15
Cálcio (%)	0,94	0,88
Fósforo disponível (%)	0,47	0,44
Sódio (%)	0,22	0,22

Premix comercial formulado de acordo as exigências nutricionais propostas por Rostagno et al⁵.

2.4. Perfil bioquímico sanguíneo

Aos 7 e 21 dias de idade, 6 aves por tratamento, totalizando 72 aves, foram contidas para coleta de 5 mL de sangue por meio de punção cardíaca, utilizando-se seringas esterilizadas, e em seguida eutanasiadas por meio de deslocamento cervical. As amostras sanguíneas foram identificadas e centrifugadas por cinco minutos a 1.500 rpm para separação

do soro, que foi imediatamente congelado à -20°C para posterior análise das concentrações séricas. Os exames bioquímicos foram realizados no Laboratório Multiusuário do Programa de Pós-Graduação da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Nas determinações bioquímicas empregaram-se reagentes comerciais padronizados (kit Labtest®), fundamentadas nos princípios de espectrofotometria. No soro sanguíneo foram determinados: ácido úrico, colesterol, colesterol HDL, triglicérides, proteína total, albumina através do analisador de bioquímica automático WIENER CM200. Para determinação dos eletrólitos sódio (Na^+), potássio (K^+) e cloretos (Cl^-) no soro sanguíneo utilizou-se o fotômetro de chama mod. FC180 CELM.

As concentrações séricas de ácido úrico, cloro, colesterol e triglicérides foram determinados pelo método enzimático colorimétrico segundo Trinder⁹, a proteína total pelo método do Biureto, a albumina sérica pelo método colorimétrico Verde de Bromocresol e colesterol HDL pelo método Acelerador-detergente seletivo. A determinação dos níveis de eletrólitos foi avaliada por fotometria de chama.

No colesterol sérico de VLDL e LDL foi empregada a fórmula de Friedewald¹⁰, sendo: VLDL Colesterol (mg/dL) = triglicerídeos (mg/dL)/5 e LDL Colesterol (mg/dL) = Colesterol total - (HDL colesterol + VLDL colesterol).

A concentração sérica de globulina foi obtida pela diferença entre a proteína total e albumina, e a relação albumina:globulina foi determinada pela divisão da concentração sérica de albumina e concentração sérica da globulina.

2.5. Delineamento estatístico

O delineamento experimental adotado foi em blocos ao acaso, sendo o critério de distribuição do bloco o andar da bateria, e os tratamentos organizados em esquema fatorial 3x4, com utilização de betaína (controle – sem a utilização do composto, betaína sintética e natural) e as relações Metionina+Cistina digestível: Lisina digestível (57%, 65%, 73% e 81%); no total de 12 tratamentos e seis repetições de sete aves cada, tanto para a fase pré-inicial, como para a fase inicial.

A análise dos dados foi realizada utilizando-se o procedimento de análise de variância (ANOVA) e os dados, quando estatisticamente diferentes a 10 % de significância, foi comparada pelo Teste de Tukey e aplicada a análise de regressão polinomial para os níveis de aminoácidos sulfurados digestíveis, de acordo com o recomendado por Sampaio¹¹, com auxílio do software de estatística R Development Core Team¹².

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença na conversão alimentar das aves no período de 1 a 7 dias de idade ($P<0,10$), com influência das relações de aminoácidos sulfurados independente das fontes de betaína testadas (Tabela 2). A melhor conversão alimentar foi encontrada para pintos alimentados com dietas formuladas com a relação de 73% de Met+Cis:Lys digestíveis, relação que é recomendada por Rostagno et al.⁵. No entanto, pode ser observado uma melhora da conversão alimentar com a utilização da betaína natural, sem diferença estatística.

Foi observado interação dos tratamentos ($P<0,10$) nas relações crescentes de aminoácidos sulfurados:lisina digestíveis e as fontes de betaína para ganho de peso, peso final e consumo de ração (Tabela 2).

No desdobramento da interação para ganho de peso e peso final (Tabela 2), as aves que se alimentaram com a ração sem inclusão de betaína e na relação 73% de Met+Cis:Lys digestíveis apresentaram melhores resultados sem efeito de regressão. Isso demonstra que a utilização de betaína, independentemente de sua fonte, foi capaz de minimizar a perda de peso causada pela redução da relação dos aminoácidos, demonstrando seu efeito poupador de grupamento metil⁶.

Para o consumo de ração dos pintos no período de 1 a 7 dias de idade (Tabela 2), somente as aves alimentadas com a betaína natural influenciaram o consumo sem efeito de regressão e as aves alimentadas com a relação de 65% de metionina+cistina:lisina digestíveis apresentaram o maior consumo comparado a outros tratamentos. Neste caso, a fonte de betaína natural foi eficiente em sua função como doadora do grupo metil.

Sakomura et. al.¹³ não encontraram diferenças em relação ao peso médio, ganho de peso e conversão alimentar de aves aos 7 dias de idade alimentadas com dietas contendo níveis reduzidos de metionina e colina na inclusão de betaína natural; e observaram que aves alimentadas com dietas contendo níveis reduzidos de metionina e de colina e aquelas submetidas a suplementação com betaína apresentaram maior consumo de ração, em relação as demais dietas, evidenciando a possibilidade de redução da inclusão de DL-metionina e de cloreto de colina na ração, consequentemente dos níveis de aminoácidos sulfurados na presença de suplementação de betaína.

No presente experimento, embora não havendo diferença expressiva na utilização das fontes de betaína, pode-se verificar o efeito poupador de metionina, pois as aves

alimentadas com as menores relações de metionina+cistina:lisina digestíveis apresentaram pesos superiores quando suplementadas com betaína, em especial a fonte de betaína natural.

Tabela 2. Desempenho de frangos alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína no período de 1 a 7 dias de idade

	Met+Cis:Lys (%)	Fontes de Betaína			Média	P*	P**	P***	CV (%)
		Cont.	Nat.	Sint.					
GP (g)	57	128,24AB	130,76	124,56	127,85				
	65	122,487B	130,81	128,83	127,37				
	73	134,93 A	126,55	134,00	131,83	0,369	0,307	0,049	5,63
	81	123,48AB	133,14	129,74	128,79				
	Média	127,28	130,31	129,28					
PF (g)		Cont.	Nat.	Sint.	Média				
	57	167,34AB	170,00	163,65	170,68				
	65	161,43 B	169,48	167,82	167,88				
	73	173,86 A	165,24	172,95	167,00	0,387	0,332	0,044	4,32
	81	162,57AB	172,28	168,79	166,24				
	Média	166,30	169,25	168,30					
CA		Cont.	Nat.	Sint.	Média				
	57	1,068	1,082	1,110	1,086AB				
	65	1,110	1,110	1,105	1,108 A				
	73	1,094	1,069	1,062	1,075 B	0,770	0,048	0,299	2,93
	81	1,100	1,087	1,096	1,094AB				
	Média	1,093	1,087	1,093					
CR (g)		Cont.	Nat.	Sint.	Média				
	57	137,96	141,43AB	140,91	140,10				
	65	136,72 b	151,09Aa	143,18ab	143,66				
	73	145,60	137,10 B	142,24	141,64	0,168	0,396	0,061	5,77
	81	135,76	144,57AB	137,54	139,29				
	Média	139,01	143,55	140,97					

Cont: Controle; Nat: Natural; Sint: Sintética. GP: Ganho de peso, PF: Peso final, CA: Conversão alimentar, CR: Consumo de ração. P*= nível de significância pela análise de variância referente a Fontes de Betaína. P**= nível de significância pela análise de variância referente à relação de Met+Cist digestível:lisina digestível. P***=nível de significância pela análise de variância referente a interação de Fontes de Betaína x Relação Met+Cist digestível:lisina digestível

Médias seguidas de letras iguais maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

Não foram encontradas diferenças no consumo de ração (P>0,10) de pintos alimentados com diferentes relações dietéticas de aminoácidos sulfurados:lisina digestíveis e fontes de betaína no período de 8 a 21 dias de idade (Tabela 3). As aves que se alimentaram com dietas contendo a betaína natural apresentaram maior ganho de peso e peso final. Foi observado efeito linear positivo no peso final de pintos alimentados com as relações de aminoácidos sulfurados: lisina digestíveis independente das fontes de betaína, a elevação das

relações metionina+cistina:lisina digestíveis no aumento da inclusão de DL-metionina provocou aumento no peso das aves (Tabela 3).

Estudos de Garcia Neto¹⁴ sobre a biodisponibilidade relativa de duas fontes de grupamentos metílicos (metionina e a betaína sintética) na alimentação de frangos, relatou que o aumento do peso das aves foi influenciado somente pela suplementação de metionina, havendo ação independente das fontes de grupo metil, a partir de análise da curva de regressão, e concluiu a superioridade da metionina quanto à biodisponibilidade.

Tabela 3. Desempenho de frangos alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína no período de 8 a 21 dias de idade

	Met+Cis:Lys (%)	Fontes de Betaína			Média	P*	P**	P***	CV (%)
		Cont.	Nat.	Sint.					
GP (g)	57	695,98	747,77	761,37	735,04	0,067	0,254	0,341	6,83
	65	707,18	769,52	747,72	741,47				
	73	753,28	747,65	720,02	740,32				
	81	751,07	780,15	768,92	766,71				
	Média	726,88B	761,27A	749,50AB					
PF (g)	57	892,20	946,11	922,27	920,19	0,093	0,078 ¹	0,266	5,39
	65	895,50b	967,25 a	949,40 ab	937,38				
	73	967,57	940,42	921,80	943,26				
	81	947,58	981,14	970,79	966,50				
	Média	925,71B	958,73A	941,07AB					
CA	57	1,426	1,372	1,364	1,387	0,080	<0,001	0,033	3,13
	65	1,370ab	1,313b	1,388 a	1,357				
	73	1,312	1,332	1,350	1,331				
	81	1,325	1,306	1,303	1,311				
	Média	1,358	1,331	1,351					
CR (g)	57	1015,33	1022,94	1001,67	1013,31	0,345	0,468	0,332	5,96
	65	968,94	1010,00	1049,33	1009,43				
	73	986,22	993,11	972,00	999,08				
	81	991,57	1035,94	969,73	983,78				
	Média	990,51	1015,50	998,18					

Cont: Controle; Nat: Natural; Sint: Sintética. GP: Ganho de peso, PF: Peso final, CA: Conversão alimentar, CR: Consumo de ração. P*= nível de significância pela análise de variância referente a Fontes de Betaína. P**= nível de significância pela análise de variância referente à relação de Met+Cist digestível:lisina digestível. P***=nível de significância pela análise de variância referente a interação de Fontes de Betaína x Relação Met+Cist digestível:lisina digestível

Médias seguidas de letras iguais maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹y=817,2751+1,7961x; P=0,015; R²=0,94. ²y= 2,9531-0,0423x+0,0003x²; R²=0,96; P=0,042; ponto de mínima =77,30. ³y=1,4857-0,0022x; P=0,032; R²=0,60. ⁴y=1,5524-0,0029x; P=0,024; R²=0,65

Houve interação dos tratamentos nas fontes de betaína e as relações de aminoácidos para conversão alimentar ($P < 0,10$) (Tabela 3). Verificou-se que a suplementação das betaínas na ração melhorou a conversão alimentar das aves à medida que as relações foram incrementadas. Nas aves alimentadas com a relação de 65%, os melhores resultados de conversão alimentar ocorreram com a adição da betaína natural, evidenciando o papel de poupador de metionina.

Não foram encontradas diferenças para consumo de ração ($P > 0,10$) no período de 1 a 21 dias de idade para as dietas testadas (Tabela 4). No entanto, aves alimentadas com a dieta controle apresentaram menor consumo de ração. Valores estes que se aproximaram dos relatados no manual da linhagem Cobb 500®, em que o consumo acumulado de ração para frangos machos nesta fase de criação é de 1106g.

Foram encontradas diferenças para ganho de peso e peso final ($P < 0,10$) dos pintos alimentados com dietas com relações crescentes de Met+Cis:Lys digestíveis e fontes de betaína no período de 1 a 21 dias de idade de forma independente (Tabela 4). Aves que se alimentaram com dietas contendo a betaína natural apresentaram maior peso, e na elevação das relações Met+Cis:Lys digestíveis associado ao aumento da inclusão de DL-metionina observou-se o aumento do peso das aves independente das fontes de betaína, resultados que apresentaram efeito linear positivo.

Houve interação dos tratamentos para conversão alimentar das aves ($P < 0,10$), obtendo-se equação linear negativa para as aves alimentadas com relações crescentes de aminoácidos sulfurados:lisina digestíveis com inclusão da betaína sintética; e efeito quadrático negativo para as aves que se alimentam com ração sem inclusão de betaína, com ponto de mínima na relação 77% (Tabela 4). O incremento das relações aminoacídicas com uso da betaína natural não influenciou a conversão alimentar. Para aves alimentadas com as relações 57% e 65% com inclusão de betaína natural foi observado menor conversão alimentar, o que pode ser atribuído à ação da betaína como poupadora de metionina, possibilitando a menor inclusão de DL-metionina na dieta. Esse efeito foi bastante pronunciado na betaína natural comparada à sintética.

Pereira et al.¹⁵ avaliaram um complexo de enzimas (protease, xilanase e amilase) associada ao uso de betaína natural em rações de frangos e como resultado obtido, não encontrou diferença no desempenho, evidenciando a economia de DL-metionina. Por outro lado, Garcia Neto¹⁵ encontrou interação significativa para conversão alimentar e relatou que

há dependência entre os níveis suplementados de metionina e betaína. Mas, o autor atribuiu a melhora da conversão alimentar aos níveis de suplementação de DL-metionina.

Tabela 4. Desempenho de frangos alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína no período de 1 a 21 dias de idade

	Met+Cis:Lys (%)	Fontes de Betaína			Média	P*	P**	P***	CV (%)
		Cont.	Nat.	Sint.					
GP (g)	57	853,11	906,87	883,12	881,04	0,091	0,077 ¹	0,266	5,62
	65	856,55 b	928,58 a	910,26 ab	898,46				
	73	928,71	901,73	882,85	904,43				
	81	908,48	942,00	931,77	927,41				
	Média	886,71B	919,80A	902,00AB					
PF (g)	57	892,20	946,11	922,27	920,19	0,093	0,078 ²	0,266	5,39
	65	895,50 b	967,25 a	949,40 ab	937,38				
	73	967,57	940,42	921,80	943,26				
	81	947,58	981,14	970,79	966,50				
	Média	925,71B	958,73A	941,07AB					
CA	57	1,335 ³	1,276 b	1,284ab	1,298	0,220	<0,001	0,058	3,03
	65	1,283 ab	1,248 b	1,307 a	1,280				
	73	1,234	1,249	1,254	1,246				
	81	1,246	1,247	1,228	1,240				
	Média	1,275	1,255	1,268					
CR (g)	57	1117,68	1164,37	1140,12	1140,72	0,226	0,799	0,276	5,78
	65	1105,66	1161,09	1196,13	1154,30				
	73	1151,20	1130,21	1114,24	1131,88				
	81	1127,33	1180,51	1111,27	1139,71				
	Média	1125,47	1159,05	1140,44					

Cont: Controle; Nat: Natural; Sint: Sintética. GP: Ganho de peso, PF: Peso final, CA: Conversão alimentar, CR: Consumo de ração. P*= nível de significância pela análise de variância referente a Fontes de Betaína. P**= nível de significância pela análise de variância referente à relação de Met+Cist digestível:lisina digestível. P***=nível de significância pela análise de variância referente a interação de Fontes de Betaína x Relação Met+Cist digestível:lisina digestível

Médias seguidas de letras iguais maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹y=778,0346+1,7997x; P=0,015; R²=0,94

²y=817,2751+1,7961x; P=0,015; R²=0,94

³y= 2,6702-0,0371x+ 0,0002x²; R²=0,97; P=0,054; xmin=77,15

⁴y=1,4598-0,0028x; R²=0,68; P=0,011

Observou-se que os níveis séricos de Na (P<0,001) e K (P=0,06) em pintos com 7 dias de idade alimentados com relações crescentes de aminoácidos e fontes de betaína apresentaram efeito linear positivo para as relações, independente das fontes de betaína (Tabela 5). Houve interação dos tratamentos no nível circulante de Cl (Tabela 5), para as fontes de

betaína e as relações de aminoácidos ($P<0,10$), e as aves que se alimentaram de ração com inclusão de betaína natural obtiveram seu nível de Cl mais alto na relação 65%. Quando a betaína sintética foi adicionada na ração das aves, o maior nível de Cl foi constatado na relação 81%, que não diferiu da relação aminoacídica 65%. As aves alimentadas na relação 73% apresentaram maior nível de cloro quando não houve inclusão de betaína.

Resultado semelhante ocorreu com Sayed e Downing¹⁶ que verificaram os efeitos do balanço eletrolítico na dieta com suplementação de betaína na ração ou na água em frangos estressados pelo calor e verificaram que a suplementação de betaína melhorou a conversão alimentar e o consumo de água, ocorrendo aumento de íons sódio (Na) e potássio (K).

Tabela 5. Níveis bioquímicos séricos de Na, K, Cl e Ácido úrico de frangos aos 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína

	Na (mg/dL)	K (mg/dL)	Cl (mg/dL)	Ácido Úrico (mg/dL)
Fontes de Betaína				
Controle	146,67	5,75	112,98	4,01
Betaína Natural	151,06	5,15	116,15	3,70
Betaína Sintética	149,25	5,26	113,66	3,45
Metionina+Cistina:Lisina digestíveis (%)				
57	142,22B	4,94	112,90	3,77AB
65	147,23B	5,19	117,12	4,44 A
73	147,84B	5,71	110,10	3,00 B
81	161,67 A	5,71	116,93	3,67 AB
Valor de P				
Fontes de Betaína	0,236	0,097	0,290	0,374
Met+Cis:Lys dig.	<0,001 ¹	0,059 ²	0,012	0,035
F.Bet. x Met+Cis:Lys	0,200	0,441	0,022	0,106
CV (%)	5,64	17,53	6,14	30,33
Desdobramento da interação				
	Cloro (mg/dL)			
Met+Cis:Lys	Controle	Betaína Natural	Betaína Sintética	
57	108,50	118,38 AB	111,82 AB	
65	112,46	120,58 A	118,32 A	
73	116,15 a	109,13 abB	105,02 Bb	
81	114,80	116,50 AB	119,48 A	

Na: Sódio, K: Potássio, Cl: Cloro. Médias seguidas de letras iguais minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

¹ $y=99,7016+0,7147x$; $P<0,001$; $R^2=0,70$

² $y=2,9085+0,0363x$; $P=0,010$; $R^2=0,91$

O efeito combinado dos íons, Na, K e Cl, com a utilização da betaina ou de colina, ambas possuindo função de doadora de grupo metil como a metionina, foi verificado em ratos

diabéticos por Jahn¹⁷, no qual o balanço iônico do líquido extracelular é principalmente regulado pelos rins e com a utilização de betaína, observou-se efeito compensatório para contrabalancear a alta concentração iônica nos rins destes animais.

Para os níveis de ácido úrico, o nível mais alto foi encontrado para a relação 65% de metionina+cistina:lisina digestíveis, independente da fonte de betaína, tendo sido encontrado 4,44 mg/dL de ácido úrico no soro sanguíneo em pintos de 7 dias (Tabela 5). O ácido úrico é o produto final do metabolismo de nitrogênio (N) nas aves, sintetizado no fígado e nos rins, é excretado em pequenos volumes de água junto com as fezes. Os níveis de ácido úrico encontrados no presente experimento, estão ligeiramente acima dos níveis normais para aves jovens que seria de 1 até 2 mg/dL. Pode-se levar em consideração possível distúrbio na função renal o que contribuiu para o aumento da concentração de ácido úrico no soro ou no plasma nas aves, pois no início do experimento as aves passaram por estresse calórico e alguns pintos desidrataram o que pode ter favorecido este quadro¹⁸.

Não foram encontradas diferenças na relação albumina:globulina ($P>0,10$) para os tratamentos em pintos de 7 dias de idade alimentados com diferentes relações de aminoácidos sulfurados: lisina digestíveis e fontes de betaína (Tabela 6). Observou-se diferença no nível sérico de albumina para as fontes de betaína ($P<0,001$) e também para as relações Met+Cis:Lys digestíveis ($P=0,03$) de forma independente, no qual, as aves alimentadas com a betaína natural apresentaram resultados superiores. Nas aves alimentadas com as relações aminoacídicas verificou-se um aumento progressivo na concentração de albumina com a elevação das relações de Met+Cis:Lys digestíveis (Tabela 6).

Houve interação dos tratamentos para os níveis séricos de proteínas totais e de globulinas ($P<0,10$) em pintos de 7 dias. As aves que se alimentaram de ração com inclusão de betaína sintética e as relações 65% e 81% apresentaram melhor resultado nos níveis de proteínas totais. As aves alimentadas com a relação 57% obtiveram os melhores resultados com a adição de betaína natural, já na relação 73% as rações sem betaína e com inclusão de betaína natural apresentaram níveis superiores de proteínas totais.

Com relação à concentração de globulinas, no desdobramento das médias, houve diferença somente para as aves do tratamento com betaína sintética (Tabela 6), sendo o maior valor obtido na relação 65% de Met+Cis:Lys digestíveis. Resultado semelhante ocorreu no experimento conduzido Awad et al.⁸, em que os efeitos da suplementação de betaína em dietas de patos não afetou significativamente os níveis séricos do soro para proteína total, albumina, globulina e relação A/G.

Tabela 6. Níveis bioquímicos séricos de proteínas totais, albumina, globulina, A/G de frangos aos 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína

	Proteínas totais (mg/dL)	Albumina (mg/dL)	Globulina (mg/dL)	A/G
Fontes de Betaína				
Controle	3,43	1,50 B	1,87	0,81
Betaína Natural	3,65	1,73 A	1,87	0,87
Betaína Sintética	3,48	1,60 B	1,87	0,86
Metionina+Cistina:Lisina digest. (%)				
57	3,44	1,54	1,90	0,82
65	3,57	1,57	1,91	0,80
73	3,44	1,63	1,81	0,88
81	3,63	1,70	1,87	0,87
Valor de P				
Fontes de Betaína	0,092	<0,001	0,998	0,171
Met+Cis:Lysdigest.	0,285	0,031 ¹	0,739	0,172
F.Bet.xMet+Cis:Lys	0,072	0,137	0,036	0,388
CV (%)	9,58	10,34	14,59	12,27
Desdobramento da interação				
	Proteínas totais (mg/dL)			
Met+Cis:Lys	Controle	Betaína Natural	Betaína Sintética	
57	3,16 b	3,67 a	3,49 abAB	
65	3,46	3,64	3,62 A	
73	3,62 a	3,61 a	3,10 bB	
81	3,50	3,70	3,69 A	
	Globulina (mg/dL)			
Met+Cis:Lys	Controle	Betaína Natural	Betaína Sintética	
57	1,74	2,01	1,95 AB	
65	1,99	1,70	2,03 A	
73	1,95	1,91	1,57 B	
81	1,82	1,86	1,93 AB	

A/G: Relação Albumina por Globulina. Médias seguidas de letras iguais minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹y=1,0729+0,0078x; P=0,004; R²=0,93

Houve diferença para os níveis séricos de colesterol e HDL (P<0,001) de pintos com 7 dias de idade para as fontes de betaína de forma independente (Tabela 7). As aves que se alimentaram com as dietas de betaína natural e sintética foram superiores as aves do grupo controle, demonstrando a importância da participação das betaínas no metabolismo de lipídeos.

Observou-se interação dos tratamentos para o conteúdo de triglicérides, VLDL e LDL (P<0,10) em pintos com 7 dias de idade alimentados com dietas de relações

aminoacídicas e fontes de betaína. As aves que se alimentaram com betaína sintética apresentaram efeito quadrático com menor concentração de triglicérides e de VLDL na relação 66%. As aves alimentadas com a relação 73% apresentaram maior nível de triglicérides e de VLDL quando adicionada a betaína natural. Já nas aves alimentadas com a relação 81% o maior nível de triglicérides e de VLDL foi quando adicionou a betaína sintética (Tabela 7).

No desdobramento da interação nos níveis de LDL (Tabela 7), as aves que se alimentaram com ração sem inclusão de betaína e com betaína natural apresentaram efeito quadrático, com menor resultado de LDL nas aves que não receberam betaína na relação 68% e nas aves alimentadas com a betaína natural apresentaram maior nível de LDL na relação 71%. As aves alimentadas na relação 73% apresentaram aumento do nível de LDL com a inclusão da betaína natural e sintética.

Nos níveis de cloro em frangos com 21 dias de idade observou-se efeito quadrático ($P < 0,10$) independentemente das fontes de betaína, com maior nível na relação 68% de Met+Cis:Lys digestíveis. Da mesma forma, os níveis de ácido úrico das aves perfizeram efeito linear positivo para as relações aminoacídicas, valores estes que estão fora dos parâmetros fisiológicos normais para aves jovens como discutido anteriormente (Tabela 8).

Houve interação para os níveis séricos de sódio e de potássio ($P < 0,001$) para frangos aos 21 dias de idade (Tabela 8), no qual as aves que se alimentaram com ração sem inclusão de betaína e com a betaína natural mostraram efeito linear positivo para as relações de metionina+cistina:lisina digestíveis. Já as aves que tiveram dieta com a inclusão da betaína sintética, o nível de sódio apresentou comportamento quadrático com menor valor na relação 62%. Os frangos alimentados com as relações 57% e 73% os maiores níveis de sódio e potássio foram quando se adicionou a betaína sintética, ocorrendo efeito parecido na relação de 81 com nível de sódio quando se adicionada a betaína sintética. As aves que se alimentaram com a betaína natural apresentaram aumento na relação 73% nos níveis de sódio e potássio.

Tabela 7. Níveis bioquímicos séricos de colesterol, triglicérides, HDL, VLDL, LDL de frangos aos 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína

	Colesterol (mg/dL)	Triglicérides (mg/dL)	HDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)
Fontes de Betaína					
Controle	120,25 B	39,10	91,06 B	7,82	20,11
Betaína Natural	138,05A	43,43	109,16A	8,69	22,23
Betaína Sintética	141,88A	43,00	106,90A	8,60	22,36
Met+Cis:Lys digestíveis (%)					
57	133,71	39,66	100,96	7,93	20,90
65	131,98	40,43	103,58	8,09	20,33
73	135,48	44,78	102,93	8,96	23,45
81	132,41	42,51	102,02	8,50	21,57
Valor de P					
Fontes de Betaína	<0,001	0,182	<0,001	0,182	0,380
Met+Cis:Lys dig.	0,953	0,288	0,967	0,288	0,507
F.Bet. x Met+Cis:Lys	0,873	0,009	0,932	0,009	0,025
CV (%)	13,98	18,23	15,09	18,24	27,36
Desdobramento das interações					
Triglicérides (mg/dL)					
Met+Cis:Lys	Controle	Natural	Sintética ¹		
57	36,10	41,08	41,80		
65	37,79	40,15	41,36		
73	44,59 ab	52,89 a	36,88 b		
81	37,92 b	39,62 ab	49,98 a		
VLDL (mg/dL)					
Met+Cis:Lys	Controle	Natural	Sintética ²		
57	7,22	8,22	8,36		
65	7,56	8,03	8,27		
73	8,92 ab	10,58 a	7,37 b		
81	7,58 b	7,92 ab	10,00 a		
LDL (mg/dL)					
Met+Cis:Lys	Controle ³	Natural ⁴	Sintética		
57	22,17	17,06	23,48		
65	16,27	24,48	20,25		
73	17,39 b	25,98 a	26,99 a		
81	24,60	21,40	18,70		

Col.: Colesterol (mg/dL), Trig.: Triglicérides (mg/dL), HDL: Lipoproteínas de alta densidade; VLDL: Lipoproteínas de densidade muito baixa; LDL: Lipoproteínas de baixa densidade.

Médias seguidas de letras iguais minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹y=251,5780-6,3974x+0,0481x²; P=0,055; R²=0,60; xmin=66,56

²y=50,3912-1,2819x+0,0096x²; P=0,054; R²=0,60; xmin=66,55

³y=252,8056-6,9694x+ 0,0513x²; P=0,009; R²=0,99; xmin=67,97

⁴y=-209,9891+6,6583x-0,0469x²; P=0,062; R²=1,00; xmax=70,93

Tabela 8. Níveis bioquímicos séricos de Na, K, Cl e Ácido úrico de frangos aos 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína

	Na (mg/dL)	K (mg/dL)	Cl (mg/dL)	Ácido Úrico (mg/dL)
Fontes de Betaína				
Controle	136,24	4,22	107,98	3,82
Betaína Natural	140,01	3,71	107,78	3,58
Betaína Sintética	143,42	3,64	106,08	3,95
Metionina+Cistina:Lisina digestíveis (%)				
57	131,89	3,55	106,21	3,22
65	136,65	3,43	107,79	3,34
73	141,00	4,01	112,16	4,52
81	150,01	4,45	102,96	4,55
Valor de P				
Fontes de Betaína	<0,001	0,009	0,637	0,542
Met+Cis:Lys dig.	<0,001	<0,001	0,005 ¹	0,005 ²
F.Bet. x Met+Cis:Lys	0,002	<0,001	0,121	0,440
CV (%)	3,10	15,66	6,74	23,36
Desdobramento das interações				
	Sódio (mg/dL)			
Met+Cis:Lys	Controle ³	Betaína Natural ⁴	Betaína Sintética ⁵	
57	126,33 b	132,17 ab	137,17 a	
65	135,80	137,33	136,83	
73	135,50 b	145,33 a	142,17 a	
81	147,33 b	145,20 b	157,50 a	
	Potássio (mg/dL)			
Met+Cis:Lys	Controle ⁶	Betaína Natural ⁷	Betaína Sintética	
57	3,00 b	3,02 b	4,62 a	
65	3,64	3,12	3,52	
73	3,70 b	4,42 a	4,50 a	
81	4,82	4,50	4,25	

Médias seguidas de letras iguais minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹Y=-80,4122+5,5934x-0,0410x²; P= 0,008; R²=0,60; xmax=68,26

²y=0,6691+0,0446x; P= 0,007; R²= 0,70

³Y= 81,6372+0,7897x; P<0,001; R²=0,89;

⁴Y=98,5584+0,6020x; P<0,001; R²=0,90.

⁵Y=370,9861-7,5631x+0,0608x²; P<0,001; R²=0,99; xmin = 62,21.

⁶y=-0,4735+0,0599x; P=0,002; R²=0,60.

⁷Y=-0,765+0,065x; P<0,001; R²=0,77.

Os resultados obtidos neste trabalho diferem dos encontrados por Alahgholi et al.¹⁹ que avaliaram níveis de salinidade de água de bebida suplementada com níveis de betaína e constataram que houve interação significativa para a betaína alimentar suplementada com a água salina de bebida, mostrando queda nos níveis circulantes de plasma sanguíneo de Na, K e

Cl. No presente estudo, houve interação para o nível de cloro aos 7 dias para as fontes de betaína e as relações metionina+cistina:lisina digestíveis, e aos 21 dias para os níveis de Na e K. Em ambas as idades foram incrementadas na dieta os níveis de DL-metionina.

Não foram encontradas diferenças nos níveis sérios de proteínas totais ($P>0,10$) em frangos com 21 dias de idade alimentados com conteúdo reduzido de aminoácidos sulfurados e fontes de betaína (Tabela 9).

Houve interação para os níveis de albumina, globulina e relação A/G ($P<0,10$) nos frangos com 21 dias de idade (Tabela 9). Nas aves que se alimentaram com ração sem a inclusão de betaína e com a adição de betaína sintética observou-se efeito quadrático nos níveis de albumina e de globulina. Houve aumento dos níveis de albumina em aves alimentadas com a relação 57% de Met+Cis:Lys digestíveis quando não se adicionou a betaína e com a inclusão da betaína natural. Já nas relações 65% e 73% houve aumento dos níveis de albumina quando da adição de betaína natural e sintética. Os níveis de globulina, aumentaram nas relações 57% e 81% de Met+Cis:Lys digestíveis quando acrescentou a betaína sintética. Na relação 65%, o nível de globulina aumentou nas aves do grupo controle.

No desdobramento da interação dos tratamentos na variável A/G, observou-se influência dos três grupos de rações testadas, aves alimentadas sem a inclusão de betaína e as que receberam a betaína natural ou a sintética. Nas aves alimentadas com ração sem inclusão de betaína ($P<0,001$) notou-se comportamento quadrático nas relações Met+Cis:Lys digestíveis, enquanto que nas aves que receberam a ração com betaína natural ($P=0,021$) e sintética ($P<0,001$) o efeito foi linear. As aves alimentadas nas relações 57% e 81% apresentaram maior A/G quando não adicionada betaína e com a adição de betaína natural na ração. E nas relações 65% e 73% os valores de A/G foram superiores com a inclusão da betaína natural e a sintética na ração.

Algo semelhante foi observado por Rama Rao et al.²⁰ que encontraram interação dos níveis de metionina e de betaína para as concentrações séricas de proteínas totais, albumina e globulinas. De acordo com Hassan et al.²¹, o aumento dos níveis séricos de albumina e de globulina em resposta à suplementação com betaína evidenciou o papel dos doadores de grupos metil no metabolismo das proteínas. A alteração dos níveis séricos de proteínas plasmáticas em função da suplementação de betaína ocorreu à medida que a relação Met+Cis:Lys digestíveis aumentou; e quando utilizada a menor relação, a betaína natural não diferiu do controle.

Tabela 9. Níveis bioquímicos séricos de proteínas totais, albumina, globulina, A:G de frangos aos 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína

	Proteínas totais (mg/dL)	Albumina (mg/dL)	Globulina (mg/dL)	A/G
Fontes de Betaína				
Controle	3,43	1,45	1,99	0,76
Betaína Natural	3,43	1,61	1,95	0,87
Betaína Sintética	3,51	1,51	1,80	0,76
Met+Cis:Lys dig. (%)				
57	3,40	1,47	1,90	0,77
65	3,50	1,46	2,06	0,73
73	3,41	1,56	1,83	0,82
81	3,52	1,61	1,87	0,87
Valor de P				
Fontes de Betaína	0,420	0,003	<0,001	<0,001
Met+Cis:Lys dig.	0,341	0,010	0,002	<0,001
F.Bet. x Met+Cis:Lys	0,368	<0,001	<0,001	<0,001
CV (%)	6,87	9,70	8,91	9,90
Desdobramento das interações				
	Albumina (mg/dL)			
Met+Cis:Lys	Controle ¹	Betaína Natural	Betaína Sintética ²	
57	1,58 a	1,60 a	1,23 b	
65	1,27 b	1,54 a	1,56 a	
73	1,29 b	1,64 a	1,73 a	
81	1,65	1,66	1,53	
	Globulina (mg/dL)			
Met+Cis:Lys	Controle ³	Betaína Natural	Betaína Sintética ⁴	
57	1,80 b	1,82 b	2,08 a	
65	2,49 a	1,88 b	1,81 b	
73	1,87	1,72	1,88	
81	1,81 ab	1,75 b	2,04 a	
	A/G			
Met+Cis:Lys	Controle ⁵	Betaína Natural ⁶	Betaína Sintética ⁷	
57	0,89 a	0,84 a	0,59 b	
65	0,57 b	0,82 a	0,81 a	
73	0,67 b	0,91 a	0,88 a	
81	0,91 a	0,93 a	0,75 b	

A/G: Relação Albumina por Globulina.

Médias seguidas de letras iguais minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹Y=13,3350-0,3535x+0,0026x²; P<0,001; R²=1,00; xmin=68,43.

²y=-9,3409+0,3061x-0,0021x²; P<0,001; R²=0,98; xmax=72,17.

³y=-10,3082+0,3677x-0,0027x²; P<0,001; R²=0,45; xmax=68,01.

⁴y=9,8677-0,2325x+0,0017x²; P=0,005; R²= 0,93; xmin=69,22.

⁵y=10,5928-0,2920x+0,0021x²; P<0,001; R²=0,95; xmin=68,51.

⁶y=0,5538+0,0046x; P=0,021; R²=0,76.

⁷y=-6,2285+0,1988x-0,0014x²; P<0,001; R²=0,99; xmax=71,51.

Não foram encontradas diferenças nos níveis de triglicérides ($P>0,10$) em frangos aos 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína. Nas aves alimentadas com ração contendo betaína natural seus níveis de VLDL ($P=0,01$) elevaram-se comparado ao grupo controle (Tabela 10). Os níveis de colesterol e VLDL de frangos aos 21 dias de idade apresentaram diferenças nas relações Met+Cis:Lys digestíveis de forma independente. Para os níveis de colesterol observou-se efeito quadrático com menor valor na relação 63% ($P<0,001$), e nos níveis de VLDL houve aumento linear ($P=0,06$). Notou-se diferença nos níveis de HDL ($P<0,10$) em frangos para as fontes de betaína de forma independente. As aves alimentadas com ração sem inclusão de betaína natural, assemelhando-se às aves que receberam a betaína natural, apresentaram maiores níveis de HDL (Tabela 10).

Houve interação das fontes de betaína e dos níveis de metionina+cistina:lisina digestíveis para LDL ($P<0,001$) em frangos aos 21 dias de idade. Nas aves que se alimentaram de ração sem inclusão de betaína apresentaram maior nível de LDL na relação 81% e as aves alimentadas com a betaina natural e sintética apontaram maior nível de LDL na relação 73%, sendo observada melhor eficiência das aves que ingeriram as betaínas, influenciando nos níveis de lipoproteínas séricas em frangos.

Resultados diferentes foram encontrados por Baghaei et al.²² que não observaram alterações dos parâmetros sanguíneos em frangos quando fornecidas dietas com substituição parcial da metionina pela betaína. Sugere-se que a diminuição da expressão de apolipoproteínas formadoras do HDL e a inibição de enzimas envolvidas em sua formação no fígado estejam relacionadas ao aumento dos níveis plasmáticos de homocisteína, que podem ser reduzidos pela utilização de betaína²³.

Nos estudos de McRae²⁴, que propôs o fornecimento dietético de betaína em frangos, verificaram aumentos nos níveis de LDL e VLDL, uma vez que sua suplementação poupou o uso de aminoácidos sulfurados, disponibilizando-a em maior quantidade para a biossíntese de fosfatidilcolina, necessária para a formação dessas lipoproteínas.

He et al.²⁵ demonstraram que a suplementação de betaína pode influenciado o metabolismo de lipídeos diminuindo os níveis de triglicérides, de ácidos graxos livres, de HDL e de LDL em comparação ao grupo controle, com diminuição de deposição de gordura na carcaça de frangos.

Tabela 10. Níveis bioquímicos séricos de colesterol, triglicérides, HDL, VLDL, LDL de frangos aos 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína

	Colesterol (mg/dL)	Triglicérides (mg/dL)	HDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)
Fontes de Betaína					
Controle	142,63	28,56	108,51 A	5,07 B	26,92
Betaína Natural	142,74	30,80	108,15AB	6,06 A	33,48
Betaína Sintética	141,34	29,20	101,21 B	5,64AB	32,15
Met+Cis:Lys dig. (%)					
57	137,78	27,81	104,85	5,41	29,48
65	133,01	28,25	101,98	5,14	24,88
73	143,07	29,52	106,93	5,69	30,72
81	155,09	32,50	110,06	6,12	38,32
Valor de P					
Fontes de Betaína	0,931	0,510	0,030	0,011	0,086
Met+Cis:Lys dig.	<0,001 ¹	0,222	0,132	0,063 ²	<0,001
F.Bet.xMet+Cis:Lys	0,102	0,456	0,250	0,265	0,001
CV (%)	9,12	20,95	9,13	16,79	21,70
Dedobramento da interação					
	LDL (mg/dL)				
Met+Cis:Lys	Controle	Betaína Natural	Betaína Sintética		
57	24,604 B	31,09 AB	29,64 AB		
65	28,226 B	25,86 B	22,41 B		
73	20,780 B	39,47 A	37,46 A		
81	38,375 A	37,51 A	39,08 A		

HDL: Lipoproteínas de alta densidade; VLDL: Lipoproteínas de densidade muito baixa; LDL: Lipoproteínas de baixa densidade. Médias seguidas de letras iguais minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹y=405,5563-8,5525x+0,0675x²; P= 0,015; R²= 0,97; xmin=63,39

²y=3,4899+0,0308x; P= 0,040; R²=0,68

4. CONCLUSÃO

A suplementação de betaína, especialmente a betaína natural reduziu a inclusão de aminoácidos sulfurados na ração sem afetar o desempenho e perfil bioquímico sanguíneo das aves, sendo possível reduzir os níveis de aminoácidos sulfurados até 65% da relação preconizada pelas tabelas brasileiras.

REFERÊNCIAS

1. Stringhini JH, Andrade ML, Andrade L, Xavier SAG, Café MB, Leandro NSM. Desempenho, balanço e retenção de nutrientes e biometria dos órgãos digestivos de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de proteína na ração pré-inicial. Rev. Bras. Zootec. 2006; 35 (6): 2350-2358.

2. Maiorka A. Efeitos da idade da matriz e do agente trófico (glutamina) sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte na primeira semana. [Tese] Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista; 2002.
3. Andrade ML. Níveis de proteína e de aminoácidos em rações pré-iniciais e seus efeitos sobre o desempenho, digestibilidade, órgãos digestivos e enzimas pancreáticas de frangos de corte. [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás; 2002.
4. Rocha PT, Stringhini JH, Andrade MA, Leandro NSM; Andrade ML; Café MB. Desempenho de frangos de corte alimentados com rações pré iniciais contendo diferentes níveis de proteína bruta e energia metabolizável. R. Bras. Zootec. 2003; 32 (1):162-170.
5. Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT, Euclides RF. Tabelas Brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais. 3a ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. 252p.
6. Eklund M, Bauer E, Wamatu J, Mosenthin R. Potential nutritional and physiological functions of betaine in livestock. Nutrition Research Reviews. 2005; 18: 31–48.
7. Furlan RL, Silva AVF, Borges AS, Macari M. Equilíbrio ácido-base. In: Macari M, Furlan RL, Gonzales E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. Jaboticabal: Funep; 2002; 51-74.
8. Awad AL, Fahim HN, Ibrahim AF, Beshara MM. Effect of dietary betaine supplementation on productive and reproductive performance of Domyati duck under summer conditions. Egyptian Poultry Science. 2014; 34 (2): 453-474.
9. Trinder P. Determination of Glucose in Blood Using Glucose Oxidase with an Alternative Oxygen Acceptor. Clin Biochem. 1969; 6: 24-27.
10. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem. 1972; 18 (6): 499-502.
11. Sampaio IBM. Estatística Aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte; FEP–MVZ; 1998. 221p.
12. R Core Team R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2014. URL <http://www.R-project.org/>
13. Sakomura NK, Barbosa NAA, Silva EP, Longo FA, Kawauchi IM, Fernandes JBK. Efeito da suplementação de betaína em dietas de frangos de corte em condições de termoneutralidade. Revista Brasileira de Ciências Agrárias. 2013; 8 (2):336-341.
14. Garcia Neto M. Avaliação da biodisponibilidade relativa entre betaína e metionina para frangos de corte. [Tese] Araçatuba: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária; 2004.
15. Pereira PWZ, Menten JFM, Racanicci ABT, Silva CS, Rizzo PV. Avaliação de complexo enzimático e betaína natural nas rações de frango de corte criados em aviário comercial. R. Bras. Zootec. 2010; 39 (10): 2230-2236.
16. Sayed MA, Downing J. Effects of dietary electrolyte balance and addition of electrolyte-betaine supplements in feed or water on performance, acid-base balance and water retention in heat-stressed broilers. Br Poult Sci. [Epub ahead of print] 2015; 4: 1-15.

17. Jahn MP. Efeito osmótico da colina e da glicina betaína no rim de ratos diabéticos [Dissertação]. Porto Alegre. Universidade federal do Rio grande do sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, 2004.
18. Lumeij JT. Avian Clinical Biochemistry. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals 5th edition. San Diego, Academic Press, 1997. 932p.
19. Alahgholi M, Tabeidian SA, Toghyani M, Sadra S, Fosoul AS. Archiv Tierzucht. 2014; 57 (4): 1-12.
20. Rama Rao SV, Raju MVLN, Panda AK, Poonam Saharia, Shyam Sunder G. Effect of supplementing betaine on performance, carcass traits and immune responses in broiler chicken fed diets containing different concentrations of methionine. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 2011; 24 (5): 662-669.
21. Hassan RA, Attia YA, El-Ganzory EH. Growth, carcass quality and serum constituents of slow growing chicks as affected by betaine addition to diets containing 1. Different levels of choline. Int. J. Poult. Sci. 2005; 4 (11): 840-850.
22. Baghaei M, Eslami M, Chaji M, Mamoue M, Bojarpour M. Effect of different levels of DL-methionine replaced with betafin on some of blood parameters on broiler chickens. J Anim. Vet. Adv. 2011; 10: 777-779.
23. Amorim FG, Rezende LCD, Coitinho LB, Freitas JV, Scherr JA, Dettogni RS. Bioquímica clínica da aterosclerose provocada por hiperhomocisteinemia. Rev. Eletr. Farm. 2011; 8(1): 36-59.
24. McRae MP. Betaine supplementation decreases plasma homocysteine in healthy adult participants: a meta-analysis. J. Chiropr. Med. 2013; 12:20-5.
25. He S, Zhao S, Dai S, LIU D, Bokhari SG. Effects of dietary betaine on growth performance, fat deposition and serum lipids in broilers subjected to chronic heat stress. Anim Sci J. [Epub ahead of print] 2015. doi: 10.1111/asj.12372.

CAPÍTULO 3. METABOLIZABILIDADE DE NUTRIENTES, BIOMETRIA DE ÓRGÃOS DO APARELHO DIGESTÓRIO E HISTOMORFOMETRIA DE SEGMENTOS INTESTINAIS DE FRANGOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES RELAÇÕES DE AMINOÁCIDOS SULFURADOS:LISINA DIGESTÍVEIS E DUAS FONTES DE BETAÍNA NAS FASES PRÉ-INICIAL E INICIAL

RESUMO

Objetivou-se com o presente experimento avaliar crescentes relações de aminoácidos sulfurados:lisina digestíveis em associação com duas fontes de betaína na dieta de frangos nas fases pré-inicial e inicial. O experimento foi conduzido no aviário experimental da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia. Foram alojados 504 pintos machos com um dia de idade, em baterias de aço galvanizado, com cinco andares, bebedouros e comedouros lineares por parcela e lâmpadas incandescentes para aquecimento. O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados em esquema fatorial 3x4, correspondentes a dietas contendo betaína (sintética e natural) comparadas à testemunha, sem utilização do composto, e diferentes relações de metionina+cistina:lisina digestíveis (57%, 65%, 73% e 81%), com 12 tratamentos, 6 repetições de 7 aves. As dietas experimentais foram formuladas com exceção dos níveis de metionina+cistina nos tratamentos e a DL-metionina adicionada em substituição ao amido. Para a metabolizabilidade de nutrientes foi utilizada a coleta total de excretas de 4 a 7 dias e de 17 a 21 dias de idade, sendo determinados os coeficientes de matéria-seca, nitrogênio, nitrogênio retido e balanço de nitrogênio. Foram realizadas necropsias em pintos com 7 e 21 dias de idade, período em que foram coletadas amostras do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) para montagem de lâminas histológicas e pesagem dos órgãos do trato gastrointestinal (TGI). Para histomorfometria, foi verificada a altura de vilos, a profundidade de cripta e a relação vilos:cripta de duodeno, jejuno e íleo. Os dados foram submetidos à análise de variância ($P < 0,10$) e aplicada a análise de regressão polinomial para as relações de Met+Cis:Lys digestíveis. Verificou-se interação positiva da betaína sobre as relações para altura de vilos e metabolizabilidade de nutrientes. Foi observado que na metabolizabilidade de nutrientes a betaína sintética foram mais eficientes que o grupo controle na redução da relação de Met+Cis:Lys digestíveis. A utilização da betaína natural e sintética influenciaram na relação vilos:cripta do jejuno demonstrando que a betaína natural agiu melhor nas menores relações de Met+Cis:Lys digestíveis, enquanto que a betaína sintética na relação 70%. As relações de aminoácidos sulfurados e as fontes de betaína influenciaram na biometria de órgãos, nos coeficientes de metabolizabilidade de nutrientes e na histomorfometria de segmentos intestinais de frangos. Recomenda-se a suplementação de 73% de Met+Cis:Lys digestíveis na fase pré-inicial e 65% na fase inicial.

Palavras-Chave: avicultura, betaína, digestibilidade, metionina, nutrição.

CHAPTER 3. NUTRIENTS METABOLIZABILITY, BIOMETRICS OF DIGESTIVE SYSTEM BODIES AND HISTOMORPHOMETRY SEGMENTS OF INTESTINAL IN BROILERS FED DIETS WITH DIFFERENT RELATIONS AMINO ACIDS SULPHUR: LYSINE DIGESTIBLE AND TWO BETAINES SOURCES ON STAGES PRE-STARTER AND START

ABSTRACT

The objective of this experiment was to evaluate increasing sulfur amino acid relationships: lysine in combination with two sources of betaine in broiler diet in pre-starter and starter phases. The experiment was conducted at experimental poultry of School Veterinary and Animal Science of Federal University of Goiás in Goiânia. 504 male chicks were housed with a day old, in galvanized steel batteries with five floors, troughs and linear feeders Division and incandescent lamps for heating. The experimental design used was DBC in a 3x4 factorial design, corresponding to diets containing betaine (synthetic and natural) compared to the control with out use of the compound, and different relations of methionine and cystine: digestible lysine (57%, 65%, 73% and 81%), with 12 treatments, 6 replicates of 7 birds. The experimental diets were formulated with the exception of methionine and cystine levels in the appropriate treatments, and the DL-methionine added to replace the starch. For the metabolization of nutrients was used the total excreta collection 4-7days and 17-21days of age, and certain coefficients of raw dry, nitrogen and nitrogen retained and nitrogen balance. Necropsies were done on chicks with 7 and 21 days of age, during which time samples were collected from the small intestine (duodenum, jejunum and ileum) for mounting histological slides and weighing the organs of the gastrointestinal (GI) tract. For histomorphometry, was checked villus height, crypt depth and villous: crypt duodenum, jejunum and ileum. Data were subjected to analysis of variance ($P < 0,10$) and applied to polynomial regression analysis for relations of Met+Cys: Lys digestible. There was a positive interaction of betaine on relations to height of villi and metabolization of nutrients. It was observed that the metabolization of nutrients synthetic betaine and natural were more efficient than the control group in reducing the Met+Cys ratio: Lys digestibles. The use of natural and synthetic betaine influence the villus: crypt jejunum demonstrating that natural betaine did better at lower ratios Met+Cys: Lys digestibles, while the relationship synthetic betaine 70%. The relations of sulfur amino acids and sources of betaine influenced the biometrics organs in metabolizability coefficients of nutrients and histomorphometry of intestinal segments of broilers. It is recommended supplementation of 73% of Met+Cys: Lys digestible in the pre-initial phase and 65% in the initial phase.

Key words: poultry, betaine, digestibility, methionine, nutrition.

1. INTRODUÇÃO

O manejo inicial nas primeiras semanas de vida dos pintos é de extrema importância para o bom desenvolvimento intestinal da ave, os pintos devem ser alojados o mais rápido possível para que tenham acesso a água e alimento sólido, de modo a possibilitar o estímulo sobre o intestino, suas estruturas e secreções. É preciso compreender as mudanças morfofisiológicas do sistema digestório, que se encontram em processo de crescimento.

Os cuidados com a alimentação na fase pré-inicial têm sido recomendados pelas seguintes razões: características anátomo-fisiológicas diferenciadas do aparelho digestivo, dificuldades em digerir e absorver certos nutrientes, crescimento acelerado nos primeiros dias de vida e pela dificuldade de termorregulação^{1,2}.

A ave recém eclodida passa por mudanças fisiológicas, metabólicas e anatômicas que justificam o fornecimento de um padrão alimentar específico para essa fase. Próximo à eclosão, o saco vitelínico é internalizado na cavidade abdominal e os nutrientes são transferidos diretamente à circulação, estes nutrientes presentes no saco vitelínico são prontamente absorvidos nos primeiros 3 a 5 dias de vida dos pintos, sendo mais importante nas primeiras 48 horas de vida.³

Uni e Ferket⁴ relataram melhor eficiência alimentar e maior peso das aves ao abate utilizando alimentação precoce e, estudos mostraram que aves que se alimentam mais cedo, utilizam os nutrientes do saco vitelínico mais rapidamente em resposta ao estímulo alimentar e isso permite o desenvolvimento precoce da resposta imune da ave, e já em jejum o desenvolvimento intestinal é afetado^{5,6,7,8}. Nos primeiros dias de vida das aves ocorre um rápido crescimento em seu aparelho digestivo. Dentre estes órgãos, o pâncreas, fígado e intestino delgado se destacam na importância para manutenção dos processos digestivos⁹.

As células ao passarem por estresse calórico ou por desafio imunológico como a coccidiose, têm alterada a membrana celular, que reage retirando potássio para fora da célula ocorrendo a desidratação do animal e possível morte senão for sanada¹⁰.

Pesquisas com a utilização da betaína têm evidenciado seu papel de osmoprotetor intestinal. A betaína, um trimetil derivado do aminoácido glicina, em sua forma natural extraída da beterraba açucareira e na forma sintética produzida a partir de sais, apresenta a função de ser um osmólito protetor, que acumulado nos tecidos, auxilia na regulação do volume hídrico celular e na bomba de sódio-potássio. Essa função osmótica ajuda as células

intestinais a manter a água dentro da célula durante o estresse de calor e distúrbios digestivos, melhorando a atividade anabólica e a integridade da membrana celular¹¹.

Dessa forma, com este trabalho objetivou-se avaliar a metabolizabilidade de nutrientes, o desenvolvimento intestinal, órgãos digestórios e imunológicos de frangos alimentados com diferentes relações de aminoácidos sulfurados e fontes de betaína na fase pré-inicial e inicial.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no aviário experimental da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, em Goiânia. O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA, inscrito sob protocolo nº 068/13.

Foram alojados 504 pintos machos Cobb 500® com um dia de idade e peso médio inicial de 39g, em baterias de aço galvanizado, com cinco andares, um bebedouro e um comedouro linear por divisão e uma lâmpada incandescente de 60 w para aquecimento. As aves foram submetidas a 12 tratamentos, correspondentes a dietas contendo betaína (sintética e natural) comparadas à testemunha, sem utilização do composto, e diferentes relações de metionina + cistina / lisina digestíveis (57%, 65%, 73% e 81%).

2.1. Dietas experimentais

Dietas experimentais a base de milho e farelo de soja, suplementos vitamínico e mineral foram formulados seguindo as exigências nutricionais propostas por Rostagno et al.¹⁵ com exceção dos níveis de metionina+cistina nos tratamentos e a DL-metionina adicionada em substituição ao amido. As rações foram isentas de promotores de crescimento e anticoccidiano, a composição percentual e nutricional para a fase pré-inicial (1 a 7 dias) e inicial (8 a 21 dias de idade) são apresentados na Tabela 1.

A betaína natural e sintética foram adicionadas no ato da mistura da ração na proporção de 1 kg/ton, considerando que a betaína natural tinha 96% e a sintética 63% de pureza, a quantidade de produto na ração corrigida foi de 1,04 Kg/ton e 1,37Kg/ton, respectivamente.

Tabela 1. Composição percentual e nutricional calculada para as rações basais pré-inicial (1-7 dias) e inicial (8-21 dias)

Ingredientes	Pré-inicial	Inicial
Milho	54,65	55,36
Farelo de soja 45%	38,08	37,56
Fosfato bicálcico	1,91	1,76
Óleo de soja	1,76	2,36
Amido	1,00	1,00
Calcário	0,86	0,82
Suplemento vitamínico	0,40	0,40
Suplemento mineral	0,10	0,10
Sal comum	0,28	0,43
Bicarbonato de sódio	0,25	0,25
DL-metionina	0,16	0,09
L-lisina HCL	0,32	0,11
L-treonina	0,12	0,004
L-Valina	0,09	0,00
TOTAL	100,00	100,00
Composição nutricional calculada		
Energia metabolizável (kcal/kg)	2.950	3.000
Proteína (%)	22,50	22,00
Treonina digestível	0,86	0,74
Metionina+Cistina digestível (%)	0,76	0,69
Metionina digestível (%)	0,47	0,40
Lisina digestível (%)	1,33	1,15
Cálcio (%)	0,94	0,88
Fósforo disponível (%)	0,47	0,44
Sódio (%)	0,22	0,22

Premix comercial formulado de acordo as exigências nutricionais propostas por Rostagno et al.¹⁵

2.2. Metabolizabilidade dos nutrientes

O ensaio de metabolismo foi realizado na fase pré-inicial (4-7 dias) e na fase inicial (17-21 dias de idade) pelo método da colheita total de excretas¹⁶. As coletas de excretas foram realizadas duas vezes ao dia, durante quatro dias e foram acondicionadas em sacos plásticos identificados, congeladas para conservação e posteriores análises bromatológicas de matéria seca (MS), nitrogênio total das excretas e das rações realizado no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Produção Animal da EVZ/UFG. As análises foram realizadas em duplicata de acordo com o método preconizado por Silva e Queiroz¹⁷.

A pré-secagem da matéria seca foi realizada em estufa de ventilação forçada à temperatura de 60°C ± 5°C por 72 horas e a matéria seca definitiva foi determinada em estufa

regulada à temperatura de 105°C, por oito horas. Foi determinado o nitrogênio total pelo método micro-Kjeldahl pelo destilador de nitrogênio/proteína Tecnal TE-0364.

Com os resultados das análises bromatológicas foram calculados os coeficientes de metabolizabilidade da matéria seca (CMMS), os coeficientes de metabolizabilidade do nitrogênio (CMN), os balanços de Nitrogênio (BN), nitrogênio retido (RET N).

2.3. Biometria de órgãos do aparelho digestório

No 7º e 21º dia de idade, uma ave por repetição foram identificadas e após serem submetidas a um período de jejum de aproximadamente seis horas, foram pesadas e posteriormente, eutanasiadas por deslocamento cervical.

Na necropsia, foram retiradas as vísceras (fígado, moela, pró-ventrículo, pâncreas, intestino delgado e grosso) que compõe o trato gastrintestinal (TGI), bursa e baço do sistema imunológico e coração, as quais foram medidas e pesadas, seguindo os seguintes passos: peso do pró-ventrículo mais moela (com conteúdo remanescente), peso do pâncreas (após a sua separação da alça duodenal), peso do fígado (sem a vesícula biliar), peso e comprimento do intestino delgado (porção que compreende o final do estômago muscular até o início dos cecos), peso e comprimento do intestino grosso (representado pelos cecos, cólon e reto).

Os valores obtidos foram utilizados no cálculo do peso relativo de cada órgão, pela fórmula: $\text{Peso relativo do órgão} = (\text{peso do órgão} / \text{peso vivo}) \times 100$.

2.4. Histomorfometria de segmentos intestinais

Foram coletados e identificados um fragmento de intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) por repetição, que foram lavados em solução fisiológica, abertos pela sua borda mesentérica, estendidos pela túnica serosa e fixados em formol tamponado a 10% por 24 horas. Posteriormente, o material foi lavado em álcool 70% para que ocorra a desidratação. As amostras foram diafanizadas em xilol e incluídas em blocos de parafina, e em seguida, as lâminas foram coradas pelo método de Hematoxilina e Eosina (HE) seguindo a metodologia descrita por Luna¹⁸. As lâminas confeccionadas foram digitalizadas em microscópio óptico e os índices morfométricos dos órgãos foram determinados utilizando o Software Image J. Foram realizadas 10 medidas de altura das vilosidades e de profundidade de criptas do duodeno, jejuno e íleo por lâmina, resultando em 60 leituras por tratamento.

2.5. Delineamento estatístico

O delineamento experimental adotado foi em blocos ao acaso, sendo o critério de distribuição do bloco, o andar da bateria, e os tratamentos organizados em esquema fatorial 3x4, com utilização de betaína (controle – sem a utilização do composto, betaína sintética e natural) e as relações Metionina+Cistina:Lisina digestíveis (57%, 65%, 73% e 81%); no total de 12 tratamentos e seis repetições de sete aves cada, tanto para a fase pré-inicial como para a fase inicial.

A análise dos dados foi realizada utilizando-se o procedimento de análise de variância (ANOVA) e os dados, quando estatisticamente diferentes a 10 % de significância, foram comparados pelo Teste de Tukey e aplicados a análise de regressão polinomial para os níveis de aminoácidos sulfurados digestíveis, de acordo com o recomendado por Sampaio¹⁹, com auxílio do software de estatística R Development Core Team²⁰.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação para CMMS, CMN, BN e RET N ($P < 0,10$) em frangos alimentados com dietas contendo aminoácidos sulfurados e duas fontes de betaína (Tabela 2). No coeficiente metabolizabilidade de matéria-seca, observou-se que as aves do grupo controle obtiveram efeito linear negativo para as relações de metionina+cistina:lisina digestíveis. As aves alimentadas na relação 81% de Met+Cis:Lys digestíveis apresentaram melhor resultado de CMMS quando se adicionou a betaína sintética (Tabela 2).

No coeficiente metabolizabilidade de nitrogênio, as aves alimentadas com inclusão de betaína sintética tiveram resposta linear positiva para as relações de aminoácidas. E novamente na relação 81% de Met+Cis:Lys digestíveis apresentaram melhor resultado de CMN quando se adicionou a betaína sintética (Tabela 2).

No nitrogênio retido pelo ganho de peso, os pintos que se alimentaram de ração sem betaína demonstrou efeito linear negativo para as relações Met+Cis:Lys digestíveis, por sua vez, as aves que receberam a betaína sintética com as relações 65 e 81% tiveram melhores resultados.

No balanço de nitrogênio (Tabela 2), as aves alimentadas com a betaína natural, na relação 67% mostraram-se menor BN obtendo efeito quadrático. Por outro lado, as aves alimentadas nas relações 65% de Met+Cis:Lys digestíveis apresentaram melhores resultados de BN quando acrescentada betaína sintética (Tabela 2). Pode-se observar que a betaína

sintética foi mais eficiente que o grupo controle, com economia de DL-metionina. Já na relação 81% de Met+Cis:Lys digestíveis houve melhores resultados de BN quando foram incluídas a betaína natural e a sintética.

Os resultados acima estão de acordo os apontados por El-Husseiny et al.²¹, que relataram a inclusão de betaína na melhoria da digestibilidade de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e de nitrogênio.

Tabela 2. Coeficientes de metabolizabilidade de frangos alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína no período 4 a 7 dias de idade

Variável	Met+Cis:Lys (%)	Fontes de Betaína			Média	P*	P**	P***	CV (%)
		Cont. ¹	Nat.	Sint. ²					
CMMS (%)	57	72,10	71,16	70,32	71,20	0,653	0,116	0,091	4,26
	65	70,97	70,97	71,94	71,30				
	73	68,62	70,96	68,12	69,23				
	81	68,03b	68,56ab	72,60 a	69,73				
	Média	69,93	70,41	70,75					
CMN (%)		Cont.	Nat.	Sint. ²	Média	0,166	0,626	0,073	11,97
	57	57,05	58,50	54,98	56,84				
	65	55,17	51,74	60,88	55,93				
	73	54,10	60,69	60,91	56,77				
	81	53,69b	58,73ab	64,47 a	58,96				
	Média	55,01	57,41	58,96					
RET N		Cont. ³	Nat.	Sint.	Média	0,004	0,130	0,015	13,06
	57	20,96	18,94	21,28AB	20,40				
	65	20,70ab	17,65b	23,02aA	20,45				
	73	17,73	19,83	18,92B	18,83				
	81	17,62b	21,05ab	23,65aA	20,87				
	Média	19,33	19,37	21,72					
BN (g)		Cont.	Nat. ⁴	Sint.	Média	0,101	0,959	0,013	12,63
	57	11,48	11,79	10,91	11,39				
	65	11,35ab	10,35b	13,04 a	11,58				
	73	11,65	11,43	11,46	11,51				
	81	9,96 b	12,25 a	12,77 a	11,66				
	Média	11,11	11,46	12,04					

CMMS: Coeficiente de Metabolizabilidade da Matéria Seca, CMN: Coeficiente de Metabolizabilidade do Nitrogênio, BN: Balanço de Nitrogênio, RET N: Nitrogênio retido (mg de nutrientes/grama de ganho de peso). Cont: Controle; Nat: Natural; Sint: Sintética. P*= nível de significância pela análise de variância referente a Fontes de Betaína. P**= nível de significância pela análise de variância referente à relação de Met+Cis digestível:lisina digestível. P***=nível de significância pela análise de variância referente a interação de Fontes de Betaína x Relação Met+Cis digestível:lisina digestível.

Médias seguidas de letras iguais na linha não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

$Y^1=82,6303-0,1842x$; $P=0,052$; $R^2=0,94$

$Y^2= 39,0398+0,2887x$; $P= 0,025$; $R^2= 0,43$

$Y^3= 29,6665-0,1499x$; $P=0,056$; $R^2= 0,81$

$Y^4= 50,0608-1,1714x+0,0087x^2$; $P= 0,040$; $R^2= 0,80$; $x_{min}=67,17$

Não foram encontradas diferenças para coeficiente de metabolizabilidade da matéria-seca e nitrogênio retido pelo ganho de peso ($P>0,10$) em frangos alimentados com dietas contendo relações crescentes de aminoácidos sulfurados:lisina digestíveis e fontes de betaína no período de 17 a 21 dias de idade (Tabela 3).

As aves alimentadas com betaína natural apresentaram maior CMN ($P=0,01$) para as fontes de betaína independente das relações metionina+cistina:lisina digestíveis, e ocorreu efeito quadrático nas relações de aminoácidos ($P<0,001$), com melhor CMN na relação 73%. Diferença semelhante ocorreu no BN ($P<0,001$), a betaína natural também obteve aumento comparado ao grupo de aves que não receberam ração com betaína (Tabela 3).

Houve interação entre as relações de aminoácidos e fontes de betaína para nitrogênio retido/ganho de peso ($P=0,08$). Constatou-se que as aves do grupo controle tiveram melhor resultado na relação 65%, já os resultados de RET N das aves alimentadas com a betaína natural aumentou linearmente ($P=0,003$) com a inclusão do aminoácido sulfurado. As aves alimentadas na relação 73% quando se adicionou a betaína sintética ou a natural foram mais eficientes que o grupo controle (Tabela 3).

Ratriyanto et al.^{22,23} afirmaram que a inclusão de betaína aumentou a metabolizabilidade dos nutrientes, o autor relatou que a propriedade osmótica da betaína melhorou a digestibilidade e diminuiu a excreção de nitrogênio no ambiente, possibilitando o uso de menores níveis de proteína bruta, evitando desperdício.

Não foram encontradas diferenças ($P>0,10$) para peso relativo de baço de pintos com 7 dias de idade (Tabela 4). Houve aumento no peso relativo da Bursa de Fabricius ($P=0,04$) utilizando a betaína sintética comparada ao grupo controle, as relações aminoacídicas existentes não influenciaram (Tabela 4). A suplementação de betaína na alimentação das aves influenciou positivamente no aumento do órgão linfóide primário. Darpossolo et al.²⁴ comentaram que o aumento da bursa pode estar relacionado na melhora do desenvolvimento da imunidade adaptativa, com maturação de um número maior de linfócitos T (CD4 e CD8), indiretamente de linfócitos B e, na produção de anticorpos.

O peso relativo de coração ($P=0,09$) aumentou em pintos alimentados com ração sem betaína de forma independente das relações aminoacídicas. Para peso de proventrículo e moela (Tabela 4), houve diferença para as relações de aminoácidos sulfurados:lisina digestíveis, observando-se um efeito quadrático positivo com melhor peso relativo na relação

66%. A redução do aminoácido sulfurado possibilitou melhor peso do órgão, a betaína sintética pode ter suprido essa redução aminoacídica.

Tabela 3. Coeficientes de metabolizabilidade de frangos alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína no período 17 a 21 dias de idade

	CMMS (%)	CMN (%)	RET N	BN (g)
Fontes de Betaína				
Controle	75,95	58,11 B	20,97	35,90 B
Betaína Natural	76,52	61,80 A	22,80	41,24 A
Betaína Sintética	75,83	60,30 AB	22,73	36,87 B
Metionina+Cistina: Lisinadigestíveis (%)				
57	75,52	55,90	21,56	36,00
65	76,34	62,20	23,08	39,77
73	76,33	61,25	21,81	38,20
81	76,20	60,93	22,22	38,05
Valor de P				
Fontes de Betaína	0,109	0,012	0,003	<0,001
Met+Cis:Lys dig.	0,125	<0,001 ¹	0,117	0,124
F.Bet. x Met+Cis:Lys dig.	0,931	0,488	0,082	0,366
CV (%)	1,53	6,50	8,72	12,01
Desdobramento da interação				
Nitrogênio Retido (mg de nutrientes/grama de ganho de peso)				
Met+Cis:Lys (%)	Controle	Betaína natural ²	Betaína Sintética	
57	20,14 B	22,20	21,97	
65	23,47 A	22,57	23,57	
73	20,57 Bb	22,74 a	23,11 a	
81	20,70AB	23,68	22,27	

CMMS: Coeficiente de Metabolizabilidade da Matéria Seca, CMN: Coeficiente de Metabolizabilidade do Nitrogênio, BN: Balanço de Nitrogênio, RET N: Nitrogênio retido (mg de nutrientes/grama de ganho de peso). Médias seguidas de letras iguais minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

$Y^1 = -65,8564 + 3,5155x - 0,0241x^2$; P= 0,003; $R^2=0,86$; $x_{max}=73,02$

$Y^2 = 19,7308 + 0,0441x$; P= 0,047; $R^2 = 0,56$

Houve interação (P<0,10) para as fontes de betaína e as relações de aminoácidos sulfurados:lisina digestíveis na alimentação de frangos, no peso relativo de pâncreas e fígado (Tabela 4). As relações aminoacídicas influenciaram o peso relativo do pâncreas, as aves que se alimentaram com ração contendo betaína natural apresentaram efeito quadrático positivo, com maior peso na relação 70% e para as aves que receberam a betaína sintética em sua alimentação houve redução no peso relativo do pâncreas relacionado ao aumento das relações aminoacídicas. Os pintos alimentados com dietas contendo as relações aminoacídicas 57%,

73% e 81% em rações sem inclusão de betaína apresentaram maior peso relativo de pâncreas. Considerando que o pâncreas aos 7 dias ainda está em fase de crescimento, as aves do grupo controle contribuíram para o desenvolvimento do órgão digestivo e não houve influência das betaínas nesse crescimento²⁵.

O peso de fígado foi influenciado pelas relações dentro do grupo controle e tratamento com betaína sintética, apresentando efeito quadrático, com aumento de peso relativo do órgão na relação 71% e um comportamento quadrático com menor peso na relação 67%, respectivamente (Tabela 4). Sabendo que o fígado é o órgão responsável pelo metabolismo da gordura, o grupo controle aumentou peso do órgão na relação 71% e também na relação 65%. Diante disso, a acumulação de gordura no fígado pode agir negativamente na síntese de ácidos graxos e triglicérides, provocando distúrbios no metabolismo das proteínas hepáticas, possivelmente desencadeados por uma hipometilação e pela alta concentração de homocisteína plasmáticas e diminuição das concentrações de S-adenosilmetionina. A adição da betaína sintética na ração das aves pode ter agido positivamente na queima de gordura, diminuindo o peso do fígado com a relação reduzida de aminoácido sulfurado:lisina digestíveis, evidenciando o fator lipotrófico da betaína.

Não foram encontradas diferenças ($P>0,10$) para peso relativo de intestino delgado e grosso de pintos com 7 dias de idade (Tabela 5). Observou-se diferença ($P=0,04$) no comprimento dos intestinos de frangos aos 7 dias nas relações metionina+cistina:lisina digestíveis (Tabela 8). O comprimento de intestino delgado apresentou comportamento quadrático e seu melhor tamanho foi na relação 68%.

No comprimento de intestino grosso (Tabela 5), não houve influência de betaína, a relação de 73% de aminoácidos sulfurados foi a melhor relação encontrada comparado as demais relações. A relação de 73% de Met+Cis:Lys digestíveis é a recomendada por Rostagno et al.¹⁵. Logo não houve influência das fontes de betaína no comprimento do intestino grosso aos 7 dias de idade nos pintos.

Não foram encontradas diferenças ($P>0,10$) para peso relativo de fígado, baço, coração e bursa de frangos com 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de Met+Cis:Lys digestíveis (Tabela 6).

Tabela 4. Biometria de órgãos do trato gastrointestinal e imunológico de frangos com 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:Lisina digestíveis e fontes de betaína

	Pâncreas (%)	Fígado (%)	PVM (%)	Baço (%)	Coração (%)	Bursa (%)
Fontes de Betaína						
Controle	0,48	4,02	6,76	0,12	0,93	0,18 B
Betaína Natural	0,43	3,83	6,53	0,11	0,89	0,19AB
Betaína Sintética	0,43	3,80	6,72	0,10	0,84	0,21 A
Metionina+Cistina:Lisina digestíveis (%)						
57	0,44	3,80	6,66	0,11	0,93	0,20
65	0,47	3,82	6,95	0,12	0,85	0,20
73	0,43	3,91	6,67	0,11	0,91	0,18
81	0,44	3,98	6,40	0,11	0,87	0,19
Valor de P						
Fontes de Betaína	0,011	0,184	0,338	0,184	0,091	0,043
Met+Cis:Lys dig.	0,432	0,594	0,047 ¹	0,656	0,292	0,380
F.Bet xMet+Cis:Lys	0,045	0,061	0,416	0,221	0,945	0,287
CV (%)	14,33	11,23	8,52	21,76	15,47	23,54
Desdobramento das interações						
Pâncreas (%)						
Met+Cis:Lys (%)	Controle	Betaína Natural ²	Betaína Sintética ³			
57	0,49 a	0,38 b	0,46 ab			
65	0,46	0,48	0,45			
73	0,48 a	0,45 ab	0,41 b			
81	0,50 a	0,42 ab	0,37 b			
Fígado (%)						
Met+Cis:Lys (%)	Controle ⁴	Betaína Natural	Betaína Sintética ⁵			
57	3,61	3,95	3,85			
65	4,29 a	3,52 b	3,66 ab			
73	4,18	3,91	3,65			
81	3,99	3,92	4,03			

PVM: proventrículo+moela. Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹Y=-2,5793+0,2866x-0,0022x²; P=0,042; R²=0,89; xmax=65,90

²Y=-2,0258+0,0716x-0,0005x²; P=0,025; R²=0,84; xmax=69,85

³y= 0,6392-0,0030x; P=0,051; R²=0,52

⁴y= -12,3925+0,4705x-0,0033x²; P=0,07; R²=0,91; xmax= 70,92

⁵y=13,8843-0,3045x+0,0023x²; P=0,019; R²= 0,97; xmin= 67,47

Houve interação para fontes de betaína e relações aminoácidos sulfurados:lisina digestíveis no peso relativo de pâncreas (P=0,004), pró-ventrículo e moela (P=0,02). As relações só interferiram no tratamento controle para o peso relativo de pâncreas, proventrículo e moela. O uso das betaínas na dieta não afetou o peso de pâncreas e proventrículo+moela, mas possibilitou economia no uso das relações de aminoácidos. No peso relativo do pâncreas,

ocorreu redução quadrática das relações de aminoácidos, encontrando menor peso na relação 74%. No peso relativo de PVM teve melhor aumento na relação 65% (Tabela 6).

Tabela 5. Biometria de intestino de frangos com 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:Lisina digestíveis e fontes de betaína

	P. Intestino delgado (%)	P. Intestino grosso (%)	C. intestino delgado (cm)	C. intestino grosso (cm)
Fontes de Betaína				
Controle	5,97	1,30	88,75	12,17
Betaína Natural	6,03	1,30	90,58	11,56
Betaína Sintética	6,03	1,25	90,42	11,90
Metionina+Cistina:Lisina digestíveis (%)				
57	6,14	1,31	89,53	12,08 AB
65	5,79	1,28	89,67	11,56 AB
73	6,07	1,33	94,56	12,69 A
81	6,05	1,23	85,92	11,17 B
Valor de P				
Fontes de Betaína	0,924	0,709	0,724	0,443
Met+Cis:Lys dig.	0,431	0,694	0,037 ¹	0,039
F.Bet. x Met+Cis:Lys	0,617	0,126	0,465	0,161
CV (%)	10,53	20,76	9,29	13,35

P. int. delg: peso do intestino delgado; P. int. gros: peso do intestino grosso; C. int. delg: comprimento do intestino delgado(cm); C. int. gros: comprimento do intestino grosso(cm).

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹Y=-58,8222+4,4366x-0,0325x²; P=0,039; R²= 0,52; xmax=68,28

Não foram encontradas diferenças (P>0,10) para comprimento de intestino delgado de frangos com 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de Met+Cis:Lys digestíveis e fontes de betaína no período de 1 a 21 dias (Tabela 7).

Houve interação para fontes de betaína e relações aminoácidos sulfurados:lisina digestíveis no peso relativo de intestino delgado e grosso (P=0,04) e comprimento de intestino grosso (P=0,01) nos frangos aos 21 dias de idade (Tabela 7). As relações aminoacídicas afetaram as aves alimentadas do tratamento controle para peso relativo de intestino delgado e intestino grosso. No intestino delgado foi observado redução do peso no aumento da inclusão das relações de aminoácidos sulfurados. Para as aves alimentadas com a relação 73%, os melhores pesos de intestino delgado encontrados foram ao adicionar a betaína sintética.

Tabela 6. Biometria de órgãos do trato gastrointestinal e imunológico de frangos com 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína

	Pâncreas (%)	Fígado (%)	PVM (%)	Baço (%)	Coração (%)	Bursa (%)
Fontes de Betaína						
Controle	0,27	2,40	3,31	0,09	0,70	0,24
Betaína Natural	0,24	2,50	3,25	0,09	0,69	0,25
Betaína Sintética	0,25	2,52	3,18	0,10	0,66	0,23
Metionina+Cistina: Lisina digestíveis(%)						
57	0,27	2,42	3,20	0,10	0,68	0,25
65	0,25	2,48	3,27	0,10	0,64	0,25
73	0,25	2,44	3,26	0,09	0,70	0,24
81	0,25	2,54	3,26	0,09	0,70	0,21
Valor de P						
Fontes de Betaína	0,097	0,201	0,538	0,257	0,279	0,386
Met+Cis:Lysdig.	0,416	0,437	0,947	0,187	0,255	0,102
F.Bet.xMet+Cis:Lys	0,004	0,730	0,023	0,194	0,750	0,125
CV (%)	15,10	9,30	12,59	23,90	14,03	21,08
Desdobramento das interações						
Pâncreas (%)						
Met+Cis:Lys	Controle ¹	Betaína Natural		Betaína Sintética		
57	0,33 a	0,24 b		0,24 b		
65	0,27	0,25		0,24		
73	0,23	0,24		0,28		
81	0,25	0,25		0,24		
Proventrículo+moela (%)						
Met+Cis:Lys	Controle	Betaína Natural		Betaína Sintética		
57	3,39AB	3,13		3,07		
65	3,68 aA	3,21 ab		2,90 b		
73	3,03 B	3,31		3,45		
81	3,14 AB	3,33		3,30		

PVM: proventrículo+moela.

Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,10$).

¹ $Y = 1,9498 - 0,0461x + 0,0003x^2$; $P = 0,048$; $R^2 = 0,98$; $x_{min} = 74,35$

A inclusão da betaína exerceu influência sobre o intestino grosso em frangos aos 21 dias de idade (Tabela 7), o peso do órgão teve efeito quadrático no grupo controle com menor peso na relação 71%. Na relação de 57%, as aves que se alimentaram de ração controle apresentaram maior peso de intestino grosso e o seu comprimento aumentou linearmente com o aumento da relação. Nas aves alimentadas nas relações 57% e 65% houve efeito poupador quando suplementadas por betaínas, peso semelhante ao tratamento controle.

No comprimento do intestino grosso de frangos aos 21 dias de idade as três fontes de betaína atuaram. O grupo controle teve aumento de comprimento em relação crescente dos

aminoácidos sulfurados, o que é o esperado com a ação dos aminoácidos sulfurados na melhora da síntese protéica nos tecidos (Tabela 7). As aves que se alimentaram com ração contendo betaína natural foi mais eficiente nas menores relações, ocorrendo efeito linear negativo para as relações Met+Cis:Lys digestíveis, já com o uso da betaína sintética o comprimento de intestino grosso apresentou efeito quadrático, com melhor comprimento na relação aminoacídica 70%.

Ratriunto et al.²² relataram que a inclusão de betaína nas dietas de frangos pode influenciar a fermentação microbiana em virtude da sua propriedade osmótica, dando sustentação para melhora da saúde intestinal, do crescimento e da sobrevivência da microbiota intestinal, que são compostas de bactérias e fungos. Assim, o uso da betaína na alimentação de frangos pode alterar o peso e comprimento do intestino grosso.

Não foram encontradas diferenças em altura de vilo de jejuno ($P>0,10$) de pintos aos 7 dias de idade. Na profundidade de cripta do jejuno e íleo ($P<0,001$) as aves alimentadas com a relação 72% foi encontrada a menor profundidade de cripta em ambas, com efeito quadrático para as relações Met+Cis:Lys digestíveis independentemente das fontes de betaína (Tabela 8).

Na relação vilo:cripta de jejuno ($P=0,08$) e íleo ($P=0,01$) foram encontradas diferenças para as relações aminoacídicas independente das fontes de betaína (Tabela 8); para vilo:cripta de jejuno, houve efeito linear para as relações de Met+Cis:Lys digestíveis; no íleo, foi encontrado maior vilo:cripta na relação 71% de Met+Cis:Lys digestíveis apresentando efeito quadrático para as relações aminoacídicas (Tabela 8).

Houve interação das fontes de betaína e as relações Met+Cis:Lys digestíveis para altura de vilo de duodeno e de íleo profundidade de cripta de duodeno e relação vilo:cripta de duodeno ($P<0,10$). Na altura de vilo de duodeno no grupo controle houve efeito quadrático com menor altura na relação 72%, já para a betaína natural observou-se aumento linear da altura de vilo de duodeno com as relações crescentes de aminoácidos. Na altura de vilo do íleo, o grupo controle se teve efeito linear negativo, e a betaína sintética, um comportamento quadrático com menor altura de vilo na relação 69% (Tabela 9).

No desdobramento da interação de fontes de betaína e relações Met+Cis:Lys digestíveis para profundidade de cripta de duodeno ($P=0,001$) em frangos aos 7 dias de idade, aves alimentadas com rações sem adição de betaína apresentaram resposta quadrática e menor profundidade de cripta na relação 72% e com a betaína sintética, efeito linear negativo para as relações aminoacídicas para profundidade de cripta, na medida que aumentou as relações de

aminoácido sulfurados:lisina digestíveis. Aves que se alimentaram na relação 73% contendo betaína natural apresentaram maior medida de profundidade de cripta de duodeno (Tabela 9).

Tabela 7. Biometria intestinal de frangos com 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína

	P.int. Delgado (%)	P.int. Grosso (%)	C. int. Delg. (cm)	C. int. Gros. (cm)
Fontes de Betaína				
Controle	2,96	0,86	120,71	19,95
Betaína Natural	3,03	0,80	122,25	19,01
Betaína Sintética	3,11	0,75	121,12	18,89
Metionina+Cistina: Lisina digestíveis(%)				
57	3,02	0,84	119,86	18,43
65	2,94	0,80	121,69	20,58
73	3,20	0,78	123,78	19,27
81	2,97	0,80	120,11	18,84
Valor de P				
Fontes de Betaína	0,442	0,061	0,902	0,328
Met+Cis:Lysdig.	0,208	0,658	0,756	0,093
F.Bet.xMet+Cis:Lys	0,036	0,038	0,449	0,012
CV (%)	13,06	20,47	10,02	13,49
Desdobramento das interações				
Peso intestino Delgado (%)				
Met+Cis:Lys (%)	Controle ¹	Betaína Natural	Betaína Sintética	
57	3,28	2,84	2,95	
65	3,01	2,89	2,92	
73	2,83 b	3,29 ab	3,48 a	
81	2,72	3,10	3,10	
Peso intestino Grosso (%)				
Met+Cis:Lys (%)	Controle ²	Betaína Natural	Betaína Sintética	
57	1,07 a	0,75 b	0,72 b	
65	0,78	0,87	0,74	
73	0,73	0,82	0,77	
81	0,88	0,75	0,76	
Comprimento intestino Grosso (cm)				
Met+Cis:Lys (%)	Controle ³	Betaína Natural ⁴	Betaína Sintética ⁵	
57	17,0 b	21,0 a	17,3 ab	
65	19,80	19,67	20,58	
73	21,50	18,67	19,33	
81	21,50 a	16,70 b	18,33 ab	

P. int. delg: peso do intestino delgado; P. int. gros: peso do intestino grosso; C. int. delg: comprimento do intestino delgado (cm); C. int. gros: comprimento do intestino grosso (cm). Médias seguidas de letras iguais na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹Y=4,5626-0,0232x; P=0,004; R²=0,96. ²y= 9,3414-0,2420x+0,0017x²; P= 0,008; R²=0,99; xmin=71,26.

³y=9,6930+0,1491x; P= 0,040; R²=0,52. ⁴Y=30,8986-0,1722x; P= 0,003; R²=0,98. ⁵Y=-60,0292+2,3048x-0,0165x²; P=0,07; R²=0,79; xmax=69,64.

No desdobramento da interação das fontes de betaína e as relações Met+Cis:Lys digestíveis para relação vilo:cripta no duodeno ($P=0,07$) em frangos aos 7 dias de idade alimentados com ração sem betaína foi observado efeito quadrático para as relações Met+Cis:Lys digestíveis, com maior vilo:cripta na relação 68%, já nas aves alimentadas com betaína natural apresentaram maior vilo:cripta de duodeno na relação 81%. Para as aves alimentadas com a relação 81% quando adicionada a betaína sintética foram encontrados maiores relações vilo:cripta de duodeno (Tabela 9). O que evidencia a influência da betaína no aumento da altura dos vilos de duodeno e de área de absorção de nutrientes.

Tabela 8. Altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta de frangos com 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações de aminoácidos sulfurados:lisina digestíveis e fontes de betaína

	Altura de Vilo (μm)			Profundidade de Cripta (μm)			Vilo:Cripta		
	Duodeno	Jejuno	Íleo	Duodeno	Jejuno	Íleo	Duodeno	Jejuno	Íleo
Fontes de Betaína									
Controle	1020,19	615,06	493,96	217,21	166,76	148,76	4,65	3,78	3,28
Betaína Natural	1000,21	579,71	502,02	201,31	161,26	157,72	5,108	3,72	3,28
Betaína Sintética	923,68	562,30	482,60	191,15	154,24	150,59	4,99	3,65	3,29
Metionina+Cistina:Lisina Digestíveis(%)									
57	1048,71	617,69	520,01	232,62	194,94	179,08	4,59	3,27	2,93
65	926,02	594,27	486,58	179,37	146,38	137,82	5,19	3,76	3,61
73	955,34	543,06	470,87	215,28	144,86	141,61	4,48	3,88	3,26
81	995,37	587,76	493,98	185,62	156,82	150,93	5,40	3,97	3,33
Valor de P									
Fontes de Betaína	0,279	0,282	0,572	0,040	0,341	0,452	0,247	0,877	0,997
Met+Cis:Lys	0,412	0,271	0,154	<0,001	<0,001 ¹	<0,001 ²	0,018	0,082 ³	0,008 ⁴
F.Bet. x Met+Cis:Lys	0,077	0,163	0,090	0,001	0,492	0,235	0,067	0,525	0,396
CV (%)	18,63	17,06	11,84	14,60	15,58	15,39	16,30	18,94	15,36

¹ $Y=1411,4134-35,2731x+0,2446x^2$; $P<0,001$; $R^2=0,96$; $x_{\min}=72,10$

² $y=1155,9531-28,5180x+0,1992x^2$; $P<0,001$; $R^2=0,93$; $x_{\min}=71,58$

³ $y=1,6853+0,0287x$; $P=0,011$; $R^2=0,89$

⁴ $Y=-9,0591+0,3539x-0,0025x^2$; $P=0,022$; $R^2=0,54$; $x_{\max}=71,01$

Tabela 9. Desdobramento da altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta de frangos com 7 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína

Met+Cis:Lys (%)	Controle ¹	Betaína Natural ²	Betaína Sintética
Altura de vilo de duodeno (µm)			
57	1171,24	923,31	1051,59
65	1001,34	992,85	783,87
73	826,39	1038,02	1001,62
81	1001,86	1126,60	857,65
Met+Cis:Lys (%)	Controle ³	Betaína Natural	Betaína Sintética ⁴
Profundidade de cripta de duodeno (µm)			
57	277,69	199,50	220,67
65	199,84	163,77	174,51
73	183,55 b	244,54 a	217,74 ab
81	207,75 a	197,45 ab	151,67 b
Met+Cis:Lys (%)	Controle ⁵	Betaína Natural	Betaína Sintética ⁶
Altura de vilo de íleo (µm)			
57	544,80	491,71	523,52
65	511,52	512,03	436,20
73	468,20	488,78	455,65
81	451,32	515,58	515,04
Met+Cis:Lys (%)	Controle ⁷	Betaína Natural	Betaína Sintética
Vilo:Cripta de Duodeno			
57	4,24	4,72 AB	4,82
65	5,46	5,66 AB	4,46
73	4,49	4,30 B	4,66
81	4,40 b	5,76 aA	6,03 a

Médias seguidas de letras iguais minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹Y=7678,1908-188,1090x+1,3023 x²; P=0,082; R²= 0,89; xmin=72,22

²y= 447,5086+8,2981x; P=0,063; R²=0,98

³y=2291,6373-58,2292x+0,4014x²; P= 0,002; R²=0,99; xmin=72,53

⁴Y=323,1437-1,8582x; P=0,006; R²=0,30

⁵y=775,8107-4,0889x; P=0,012; R²= 0,97

⁶y= 3201,3625-80,1107x+0,5801x²; P= 0,017; R²= 0,96; xmin=69,04

⁷y=-19,4023+0,7141x-0,0052x²; P=0,044; R²=0,50; xmax=68,50

Não foram encontradas diferenças (P>0,10) de profundidade de cripta para duodeno (Tabela 10). Observou-se comportamento quadrático negativo nas relações de Met+Cis:Lys digestíveis em profundidade de cripta de jejuno (P<0,001) e profundidade de cripta de íleo (P=0,007), independentemente das fontes de betaína e sua menor profundidade de cripta em ambas foi na relação 63%.

Também foi encontrada diferença na relação vilo:cripta do íleo em frangos (Tabela 10), a betaína natural mostrou-se superior ao tratamento controle (P=0,05) e ocorreu efeito linear negativo para as relações de Met+Cis:Lys digestíveis, no aumento de inclusão da

DL-metionina observou-se redução da relação vilo:cripta. Conclui-se que a betaína em especial, a betaína natural contribuiu a para melhoria da saúde intestinal de frangos aumentando e protegendo os epitélios, evidenciando sua função osmoprotetora intestinal.

Houve interação de fontes de betaína e relações Met+Cis:Lys digestíveis de altura de vilo em jejuno ($P=0,08$) e íleo ($P=0,03$) de frangos alimentados com dietas com relações crescentes de metionina+cistina: lisina digestíveis e fontes de betaína aos 21 dias de idade (Tabela 11). Na altura de vilo do jejuno, ocorreu redução quadrática no grupo controle, com menor altura de vilo na relação 68%, na betaína sintética ocorreu aumento linear de altura de vilo quando submetido às relações crescentes de aminoácidos sulfurados. Na altura do íleo, somente a betaína sintética mostrou efeito quadrático, com menor altura de vilo na relação 67%. Não foram encontradas diferenças de altura de vilo no duodeno.

No desdobramento da interação dos tratamentos para relação vilo:cripta em jejuno ($P=0,04$) de frangos aos 21 dias de idade (Tabela 11), a utilização da betaína natural e sintética na alimentação das aves influenciou na relação vilo:cripta, de forma que, houve redução linear da relação pelo aumento da suplementação de DL-metionina, demonstrando que a betaína natural agiu melhor nas menores relações 57 e 65%. Já a betaína sintética obteve aumento quadrático e sua melhor relação Met+Cis:Lys digestíveis encontrada foi 70%. Nas aves alimentadas com a relação 73% os melhores resultados de vilo:cripta de jejuno foram quando foi adicionada a betaína sintética.

Em concordância com Sakomura et al.²⁶, a suplementação de 0,1% de betaína natural melhorou a altura dos vilos, a capacidade digestiva-absortiva dos nutrientes e foi possível reduzir a inclusão de DL-metionina e de cloreto de colina na ração com a suplementação de betaína.

Tabela 10. Altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta de frangos com 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína

	Altura de Vilo (μm)			Profundidade de Cripta (μm)			Vilo:Cripta		
	Duodeno	Jejuno	Íleo	Duodeno	Jejuno	Íleo	Duodeno	Jejuno	Íleo
Fontes de Betaína									
Controle	1379,36	960,34	738,27	180,35	158,71	129,27 AB	7,84	6,289	5,84 AB
Betaína Natural	1399,58	907,33	716,88	190,53	155,31	119,24 B	7,43	6,21	6,18 A
Betaína Sintética	1388,30	918,03	722,70	194,04	148,25	136,48 A	7,20	6,457	5,46 B
Metionina+Cistina:Lisina Digestíveis(%)									
57	1423,96	916,65	726,20	193,04	139,48	121,38	7,49	6,41	6,12
65	1310,13	853,18	713,43	178,94	140,67	119,17	7,51	6,29	6,16
73	1446,27	926,55	713,01	189,44	145,94	128,00	7,63	7,039	5,71
81	1375,95	1017,88	751,15	191,80	190,27	144,77	7,31	5,54	5,32
Valor de P									
Fontes de Betaína	0,914	0,397	0,624	0,302	0,564	0,033	0,277	0,795	0,053
Met+Cis:Lys	0,090	0,010	0,473	0,573	<0,001 ¹	0,007 ²	0,914	0,017	0,056 ³
F.Bet. x Met+Cis:Lys	0,264	0,079	0,026	0,157	0,459	0,123	0,191	0,040	0,852
CV (%)	10,23	13,26	9,89	14,25	18,07	14,96	15,43	16,37	14,20

Médias seguidas de letras iguais maiúscula na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,10$).

¹ $Y = 817,9720 - 21,6144x + 0,1709x^2$; $P = 0,010$; $R^2 = 0,95$; $x_{\min} = 63,24$

² $y = 477,4776 - 11,4034x + 0,0903x^2$; $P = 0,039$; $R^2 = 0,99$; $x_{\min} = 63,12$

³ $y = 8,2337 - 0,0347x$; $P = 0,008$; $R^2 = 0,827$

Tabela 11. Desdobramento de altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta de frangos com 21 dias de idade alimentados com dietas contendo relações crescentes de metionina+cistina:lisina digestíveis e fontes de betaína

Met+Cis:Lys (%)	Controle ¹	Betaína Natural	Betaína Sintética ²
Altura de vilo de jejuno (µm)			
57	1024,34	872,93	852,69
65	846,19	866,45	846,90
73	894,45	989,78	895,43
81	1076,36	900,15	1077,11
Met+Cis:Lys (%)	Controle	Betaína Natural	Betaína Sintética ³
Altura de vilo de íleo (µm)			
57	743,79	705,72	729,09
65	656,81 b	788,43 a	695,06 ab
73	770,52 a	666,75 b	701,75 ab
81	781,96	706,59	764,89
Met+Cis:Lys (%)	Controle	Betaína Natural ⁴	Betaína Sintética ⁵
Vilo:Cripta de jejuno			
57	6,52	7,13	5,57
65	6,39	6,190	6,28
73	6,23 b	6,48 b	8,41 a
81	6,02	5,04	5,57

Médias seguidas de letras iguais minúscula na linha não diferem pelo teste de Tukey (P<0,10).

¹Y=7310,1786-189,8571x+1,3946x²; P=<0,001; R²= 0,98; xmin=68,07

y²=240,0588+9,7270x; P=0,034; R²=0,76

³y= 2401,0198-50,9534x+0,3796x²; P=0,069; R²=0,99; xmin=67,12

⁴y=11,0571-0,0694x; P=0,004; R²= 0,718

⁵y= -51,4274+1,6771x-0,0120x²; P=0,011; R²= 0,56; xmax=70,04

4. CONCLUSÃO

As relações de aminoácidos sulfurados e as fontes de betaína influenciaram na biometria de órgãos, nos coeficientes de metabolizabilidade de nutrientes e na histomorfometria de segmentos intestinais de frangos. A fonte de betaína sintética mostrou-se efetiva na metabolizabilidade dos nutrientes. Recomenda-se a suplementação de 73% de Met+Cis:Lys digestíveis na fase pré-inicial e 65% na fase inicial.

REFERÊNCIAS

1. Stringhini JH, Andrade ML, Andrade L, Xavier SAG, Café MB, Leandro NSM. Desempenho, balanço e retenção de nutrientes e biometria dos órgãos digestivos de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de proteína na ração pré-inicial. Rev. Bras. Zootec. 2006; 35 (6): 2350-2358.

2. Maiorka A, Santin E, Dahle F, Boleli IC, Furla RL, Macari M. Posthatching Water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. *J. Appl. Poult. Res.* 2003; 12: 483–492.
3. Yegani M, Korver DR. Factors affecting intestinal health in poultry. *Poult. Sci.* 2008; 87 (10): 2052-2063.
4. Uni Z, Ferket RP. Methods for early nutrition and their potential. *World's Poultry Science Journal.* 2004; 60: 101-111.
5. Uni Z, Ganot S, Sklan D. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poult Sci.* 1998; 77: 75-82.
6. Noy Y, Sklan D. Metabolic responses to early nutrition. *Journal Applied Poultry Research.* 1998; 7: 437-451.
7. Maiorka A. Efeitos da idade da matriz e do agente trófico (glutamina) sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal e atividade enzimática do pâncreas de pintos de corte na primeira semana. [Tese] Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista; 2002.
8. Gonzales E, Stringhini JH, Dahlke, Cunha WCP, Xavier SAG. Productive consequences of fasting neonatal chicks of different genetic constitutions for growing. *Rev. Bras. Cienc. Avic.* 2008; 10 (4):253-256.
9. Murakami H, Akiba Y, Horiguchi M. Growth and utilization of nutrients in newly-hatched chicks with or without removal of residual yolk. *Growth Dev Aging.* 1992; 56(2):75-84.
10. Furlan RL, Silva AVF, Borges AS, Macari M. Equilíbrio ácido-base. In: Macari M, Furlan RL, Gonzales E. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte.* Jaboticabal: Funep; 2002; 51-74.
11. Rama Rao SV, Raju MVLN, Panda AK, Poonam S, Shyam SG. Effect of supplementing betaine on performance, carcass traits and immune responses in broiler chicken fed diets containing different concentrations of methionine. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2011; 24 (5): 662-669.
12. Kawazoe U. Coccidiose. In: Macari M, Berchieri Jr. A. *Doenças das aves.* Campinas: FACTA; 2000, p. 391-405.
13. Teixeira M. Anátomo-clínica e biologia em frangos de corte experimentalmente infectados com *eimeria acervulina* e suplementados com betaína. [Tese] Seropédica: Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2007.
14. Augustine PC, Mcnaughton, JL, Virtanen E, Rosi L. Effect of betaine on the growth performance of chicks inoculated with mixed cultures of avian *Eimeria* species and on invasion and development of *Eimeria tenella* and *Eimeria acervulina* in vitro and in vivo. *Poult Sci.* 1997; 76:802-809.
15. Rostagno HS, Albino LFT, Donzele JL, Gomes PC, Oliveira RF, Lopes DC, Ferreira AS, Barreto SLT, Euclides RF. *Tabelas Brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais.* 3a ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. 252p.
16. Sakomura NK, Rostagno HS. *Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos.* Jaboticabal: Funep, 2007, 283p.
17. Silva DJ, Queiroz AC. *Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos).* 3a ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. 235p.

18. Luna LG. Manual of the histologic staining methods of the armed forces institute of pathology. 3a.ed. New York: McGraw Hill, 1968. 258p.
19. Sampaio IBM. Estatística Aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte; FEP–MVZ; 1998. 221p.
20. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. 2014; Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
21. El-Husseiny OM, Abo-El-Ella MA, Abd-Elsamee MO, Magda, Abd-Elfattah M. Response of broilers performance to dietary betaine and folic acid at different methionine levels. International Journal of Poultry Science. 2007; 6 (7): 515-523.
22. Ratriyanto A, Mosenthin R, Bauer E, Eklund M. Metabolic, Osmoregulatory and nutritional functions of betaine in monogastric animals. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 2009; 22 (10):1461–1476.
23. Ratriyanto A, Inreswri R, Sunarto. Effect of protein levels and supplementatio of methyl group donor on nutrient digestibility and performance of broiler chickens in the tropics. Int. J. Poult. Sci. 2014; 13 (10): 575-581.
24. Darpossolo FPB, Quintana LR, Magnani M, Oba A, Venâncio EJ, Castro-Goméz RJH. Avaliação do potencial imunoestimulante da arboximetil-glucana de *Saccharomyces cerevisiae* em frangos de corte (*Gallus domesticus*). Rev.Ciências Agrárias. 2010; 31(1): 231-240.
25. Fagundes NS. Desenvolvimento do sistema digestório e da capacidade digestiva de frangos de corte alimentados com diferentes níveis de energia metabolizável. [Dissertação]Uberlândia, Universidade Federal de Uberlândia; 2011.
26. Sakomura NK, Barbosa NAA, Silva EP, Longo FA, Kawauchi IM, Fernandes JBK. Efeito da suplementação de betaína em dietas de frangosde corte em condições de termoneutralidade.Revista Brasileira de Ciências Agrárias. 2013; 8 (2): 336-341.

CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o desenvolvimento da avicultura e mais especificamente da nutrição das aves, exigem-se estudos constantes sobre as exigências de nutrientes para a formulação de dietas de qualidade para as aves. A busca por melhor digestibilidade dos nutrientes e redução de custo na produção, que pode representar mais de 60 a 80% do custo do animal vivo, justifica o fato de evitar-se cometer erros ou minimizar os prejuízos. A supervalorização de ingredientes no mercado e sua dificuldade em substituí-lo por outro similar na ração sem afetar o desempenho, pode significar redução no lucro esperado na produção de frangos.

A betaína, aditivo alimentar que substitui parcialmente a metionina reduzindo a suplementação dietética de metionina e de colina garantindo o mesmo desempenho, foi avaliada neste trabalho com resultados satisfatórios, ampliando as perspectivas para utilização da betaína como opção de fonte de radicais metil e substituidor parcial dos aminoácidos sulfurados como a metionina e cistina em rações para frangos.

A suplementação de betaína influenciou o desempenho e, para as aves que se alimentaram da betaína, especialmente a betaína natural, observou-se incremento no peso, no consumo de ração e melhor conversão alimentar comparados às aves do grupo controle, indicando os níveis de aminoácidos sulfurados podem ser reduzidos até 65% da relação preconizada pelas tabelas brasileiras que são de 72%.

Em relação ao perfil bioquímico sanguíneo, houve alteração dos níveis séricos de proteínas em função da suplementação de betaína evidenciando o papel de doador de grupos metil no metabolismo das proteínas, promovendo aumento dos níveis à medida que a relação Met+Cis:Lys digestíveis aumenta; e quando utilizada a menor relação, a betaína natural não difere do tratamento controle. A suplementação de betaína pode influenciar o metabolismo de lipídeos, alterando os níveis de lipoproteínas séricas em frangos nas menores relações de metionina+cistina:lisina digestíveis.

Neste contexto, a metabolizabilidade dos nutrientes foi influenciada pelas betaínas, e provavelmente, a propriedade osmótica da betaína contribuiu para a melhora das ações ligadas à digestão e absorção dos nutrientes, diminuindo a excreção de nitrogênio no ambiente na relação 73% de Met+Cis:Lys digestíveis, e constatou-se que a betaína sintética foi mais eficiente que o grupo controle. A relação ideal de aminoácidos sulfurados digestíveis na dieta é de extrema importância para o bom desenvolvimento do frango de corte.

A betaína influenciou a saúde intestinal das aves, aumentando a altura dos vilos, contribuindo para melhora da capacidade de absorção dos nutrientes, evidenciando sua propriedade osmoprotetora intestinal. A fonte de betaína natural mostrou-se mais eficiente que a betaína sintética, o que pode estar associado à sua constituição de origem natural, exercendo suas ações nos tecidos como osmólito e em virtude da sua elevada solubilidade em água, apresentando efeito nutricional mais pronunciado. Enquanto, a betaína sintética atuou preferencialmente como aditivo alimentar.

Nas Tabelas brasileiras a relação de Met+Cis:Lys digestíveis nas fases pré-inicial e inicial em dietas para frangos a recomendação é 72% de Met+Cis:Lys digestíveis, com a suplementação de betaínano presente no experimento, conclui-se que a fase inicial (8-21 dias de idade) possa ser reduzida a 65%.

Novas pesquisas devem ser conduzidas para avaliar as relações existentes entre a homocisteína e o metabolismo proteico e lipídico no fígado das aves suplementadas com betaína. Além disso, há a necessidade de experimentos com desafio de coccidiose com uso de níveis de betaína na alimentação de frango no estado de Goiás.