

ANDERSON DE ALMEIDA BARBOSA

**PARÂMETROS ENZIMÁTICOS E DE TECIDOS DE CODORNAS
ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES RELAÇÕES DE
TREONINA COM LISINA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

ANDERSON DE ALMEIDA BARBOSA

**PARÂMETROS ENZIMÁTICOS E DE TECIDOS DE CODORNAS
ALIMENTADAS COM DIETAS CONTENDO DIFERENTES RELAÇÕES DE
TREONINA COM LISINA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 25 de novembro de 2009

Prof. Sérgio Luiz de Toledo Barreto
(Co-Orientador)

Prof^a. Marli Lourdes de Oliveira

Prof^a. Tânia Toledo de Oliveira

Prof^a. Valéria Monteze Guimarães

Prof. George Henrique Kling de Moraes
(Orientador)

Dedico este trabalho aos meus pais, Paulo e Célia e ao meu irmão Luis, por todo incentivo e apoio.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, pela oportunidade de participar do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola.

Ao professor George Henrique Kling de Moraes, pela amizade, paciência e voto de confiança e orientação.

As professoras Maria Goreti e Márcia Rogéria pelo incentivo e apoio técnico, disponibilizando equipamentos para a realização deste trabalho.

Ao professor José Ivo Ribeiro Júnior pela amizade, incentivo e apoio técnico.

As professoras e amigas Sônia Ribeiro e Virginia Pizziolo pelo apoio e incentivo.

Às amigas, Rita Stampini, Solange Bigonha, Ana Ermelinda, pelo apoio e pelos bons momentos de convivência e amizade.

Aos amigos Breno Cezar, Patrícia Fontes e Sofia pela amizade e incentivo durante todo o período.

Aos funcionários do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, especialmente ao Sr. Geraldo Dias, Eduardo Monteiro, Núbia, Priscila e Reginaldo Barbosa.

Ao funcionário e amigo Jefferson Dias, do Laboratório de Bioquímico Animal, pela colaboração e incentivo na realização das análises de laboratório.

À amiga Elisa pelo total apoio e incentivo, estando sempre presente em todos os momentos da execução deste trabalho.

A todos os amigos, professores e funcionários que por acaso tenha me esquecido de mencionar, mas que serei eternamente grato pela convivência e colaboração.

BIOGRAFIA

Anderson de Almeida Barbosa, filho de Paulo Antônio Barbosa e Célia de Almeida Barbosa, nascido em 17 de julho de 1962 na cidade de Além Paraíba, Minas Gerais. Em março de 1980 iniciou o curso de graduação em Medicina Veterinária na Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, colando grau em julho de 1985. Concluiu o mestrado em Bioquímica Agrícola, na Universidade Federal de Viçosa no dia 29 de julho de 2005. Em agosto de 2005 iniciou o doutorado em Bioquímica Agrícola, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese no dia 25 de setembro de 2009.

ÍNDICE

1. RESUMO	vii
2. ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. Atividade de enzimas digestivas	5
2.2. Atividade de enzimas hepáticas	9
2.3. Níveis protéicos da dieta e relações entre aminoácidos	11
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
CAPÍTULO I. Perfil da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase e biometria do fígado de codornas japonesas	24
3. INTRODUÇÃO	25
4. MATERIAL E MÉTODOS	26
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
6. CONCLUSÕES	34
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
CAPÍTULO II. Atividade de amilase e lipase no pâncreas e quimo de codornas tratadas com diferentes níveis de L-treonina	37
3. INTRODUÇÃO	38
4. MATERIAL E MÉTODOS	40
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
6. CONCLUSÕES	60
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61
CAPÍTULO III. Atividade da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase e biometria do fígado de codornas japonesas tratadas com diferentes níveis de L-treonina	64
3. INTRODUÇÃO	65
4. MATERIAL E MÉTODOS	67
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	70
6. CONCLUSÕES	81
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82
ADENDO	85

RESUMO

BARBOSA, Anderson de Almeida, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2009. **Parâmetros enzimáticos e de tecidos de codornas alimentadas com dietas contendo diferentes relações de treonina com lisina.** Orientador: George Henrique Kling de Moraes. Coorientadores: Sergio Luiz de Toledo Barreto, Cláudio Cesar Fonseca, José Ivo Ribeiro Júnior e Sebastião Tavares de Rezende.

O trabalho consistiu de duas fases, na primeira, objetivou-se determinar o efeito da idade sobre o perfil da aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) e sobre a biometria do fígado de codornas poedeiras (*Coturnix coturnix japonica*) de 1 a 25 dias de idade. Na segunda fase, objetivou-se determinar o efeito da idade e o efeito da variação da relação treonina digestível:lisina digestível da dieta sobre a atividade da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase no fígado e no soro sanguíneo, sobre a biometria do fígado, as proteínas totais no fígado e soro e a albumina e globulinas no soro. Para a fase inicial, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis idades e cinco repetições, sendo cada animal uma unidade experimental. Aos 1, 5, 10, 15, 20 e 25 dias de idade cinco animais foram sacrificados e os fígados coletados, pesados, congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -20°C. Para a segunda fase, foram utilizadas 60 codornas de 57 dias de idade, distribuídas em esquema de parcelas subdivididas, com relações treonina digestível:lisina digestível de 0,65, 0,75 e 0,85. Ao término de cada período experimental, foi selecionada uma ave ao acaso de cada repetição e sacrificada por deslocamento cervical. Os sangues e os fígados coletados foram imediatamente pesados. Aproximadamente 100 mg de cada fígado foi adicionado a 10 mL de água destilada e deionizada gelada e homogeneizado com a utilização de agitador Potter-Ev. As amostras foram então centrifugadas a 7500 x g por 10 minutos e o sobrenadante utilizado para as determinações das atividades das enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Para a obtenção do soro, o sangue, depois de coletado, foi deixado em repouso à temperatura ambiente, durante 15 minutos. Em seguida as amostras foram centrifugadas a 7500 x g, durante 10 minutos, sendo utilizado para a determinação das atividades enzimáticas de AST e ALT. As proteínas totais do

fígado e soro foram determinadas pelo método espectrofotométrico de Lowry, sendo analisadas a 700 nm. Para a primeira fase o peso do fígado apresentou crescimento linear em função da idade e não aumentou na mesma proporção que o peso corporal das codornas no mesmo período de crescimento. As atividades totais da AST e ALT apresentaram crescimento linear em função da idade. A enzima AST apresentou maior atividade total em relação à enzima ALT. No primeiro dia de vida as enzimas AST e ALT já apresentaram atividades específicas consideráveis em relação às outras idades. A atividade por grama de fígado em função da idade de AST foi bem maior que a ALT em todas as idades. A atividade da enzima ALT por grama de peso corporal apresentou decréscimo linear em função da idade. Para a segunda fase, a variação da relação Thr:Lys na dieta interferiram na quantidade de proteínas totais, albumina e globulinas no soro. A relação de 0,85 treonina digestível:lisina digestível foi a que proporcionou melhor resultado para os níveis de albumina. Para a atividade de AST e ALT no soro, a relação de treonina digestível:lisina digestível de 0,75 foi a que produziu menor atividade para ambas as enzimas no soro, sendo a relação Thr:Lys recomendada. A AST no fígado, apresentou maior atividade na relação 0,75 caracterizando um ajuste metabólico.

ABSTRACT

BARBOSA, Anderson de Almeida, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, november, 2009. **Enzimatic and tissue parameters of quails fed with diets containing different threonine with lysine ratios.** Adviser: George Henrique Kling de Moraes. Co-Advisers: Sergio Luiz de Toledo Barreto, Cláudio Cesar Fonseca, José Ivo Ribeiro Júnior and Sebastião Tavares de Rezende.

The work was consisted of two experiments. In the first, it was aimed to determine the effect of the age on the profile of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) and in the liver biometry of laying quails (*Coturnix coturnix japonica*) from 1 to 25 days of age. In the second experiment, it was aimed to determine the effect of age and the variation of the diatery digestible threonine:digestible lysine ratios in activity of liver and serum AST and ALT, liver biometry, liver and serum total proteins and serum albumin and globulins. For the initial experiment, the experimental designed was completely randomized, with six ages and five replicates, being each animal an experimental unit. At 1, 5, 10, 15, 20 and 25 days of age five animals were sacrificed and livers were collected, weighted, frozen in liquid nitrogen and stored to -20°C. For the second experiment, 60 quails of 57 days old were used and distributed in split plots. The digestible threonine:digestible lysine ratios were 0.65, 0.75 and 0.85. At the end of each experimental period, one bird of each replicate was selected and sacrificed by cervical dislocation. Blood and liver were immediately weighted. To approximately 100 mg of the liver were added 10 mL of distillated and deionized cold water and homogenized with Potter-Ev mixer. The samples were centrifuged 7500 x g for 10 minutes and the supernatant used for determinations of the activities of hepatic ALT and AST. The serum was obtained after blood clotting at room temperature for 15 minutes. After the samples were centrifuged 7500 x g, for 10 minutes, and the supernatant used to determine the activities of AST and ALT. The liver and serum total proteins were determine by the Lowry method at 700 nm. For the first experiment the weight of the liver presented linear growth in function of age and it not increase in the same proportion of corporal weight in the same growth period. The total activities of AST and ALT presented linear growth in function of

the age. AST presented higher total activity in relation to the ALT. At the first day of age AST and ALT presented considerable specific activities in relation older ages. AST activity per gram of liver in function of the age was much higher than ALT in all ages. ALT per gram of corporal weight presented linear decrease in function of age. For the second experiment, the variation of the digestible threonine:digestible lysine ratios in the diet interfered in the amount of serum total proteins, albumin and globulins. Digestible threonine:digestible lysine ratio 0.85 provided better result for albumin levels. For serum AST and ALT activities, the 0.75 digestible threonine:digestible lysine ratios produced smaller activity for both enzymes. Liver AST, presented higher activity 0.75 ratio characterizing a metabolic adjustment. In conclusion the ratio recommended was 0.75.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A avicultura industrial brasileira tem se desenvolvido de forma expressiva e ocupa um dos primeiros lugares na produção e exportação mundial. Concomitantemente, a produção de codornas também tem aumentado substancialmente, sendo o plantel em 1999 de 4.837.506 e em 2004 de 6.243.202 codornas de postura, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE (2006).

Os principais fatores que tem contribuído para a criação de codornas são: rápido crescimento, maturidade sexual precoce, alta taxa de postura (em média 300 ovos/ave/ano), elevada densidade de criação (320 a 400 aves/m²), grande vida produtiva (14 a 18 meses), baixo investimento e rápido retorno do capital investido (Albino & Barreto, 2003). Mesmo com uma produção em expansão, muito se desconhece sobre o manejo e a nutrição das codornas japonesas. O que tem sido feito é basear na experiência de criadores, na maioria das vezes, sem dados científicos (Murakami, 2002).

Para viabilizar a exploração racional, torna-se necessária a realização de pesquisas objetivando a adoção de programas corretos de alimentação, práticas de manejo e sanidade. Porém, a nutrição é o fator de maior relevância econômica, pois é justamente sobre o fator alimentação que recai a maior parcela do custo de produção. Além disso, as formulações de rações para codornas baseiam-se em tabelas de exigências nutricionais de outros países, como o National Research Council - NRC (1994) e o Instituto National de la Recherche Agronomique - INRA (1999) (Barreto et al., 2006). Também, são feitas extrapolações dos valores nutricionais constantes nas tabelas de exigências de frangos de corte e/ou galinhas poedeiras. Isto tem comprometido a produtividade, causando prejuízos econômicos com a utilização de níveis incorretos de alguns nutrientes.

Na produção industrial de perus, frangos de corte e poedeiras surgiram inúmeros problemas provenientes do melhoramento genético para o aumento de peso e produção de ovos. Problemas como a deposição de gordura corporal, alta incidência de doenças metabólicas e desordens no sistema locomotor apareceram devido ao fato de não se saber da sua associação com

rápido crescimento. Todavia, hoje em dia, sabe-se, que raças de crescimento mais lento não apresentam a maioria destes problemas, demonstrando que estes estão associados ao rápido crescimento e não a linhagem. Assim, é possível corrigi-los sem prejudicar o desempenho incorporado geneticamente (Kestin et al., 1999). Para que os mesmos problemas não apareçam com as futuras linhagens de codornas, torna-se necessário preocupar desde o início em selecionar linhagens geneticamente mais resistentes a estes juntamente com a incorporação de melhoramentos genéticos para ganho de peso e produção de ovos.

A idade de abate, assim como o início da produção de ovos tem reduzido a cada dia, aumentando a demanda metabólica dos animais. Portanto, as primeiras semanas de vida passaram a representar um período maior em relação ao tempo de vida destes animais. Isto, torna cada vez mais importante o conhecimento dos processos metabólicos dos alimentos para a otimização das demandas de nutrientes em relação aos diversos períodos. Para tanto, as alterações, na morfologia e nas atividades de diversas enzimas, tem sido estudadas em frangos (Al-Marzooqui & Leeson., 2000; Yi et al., 2005; Solis de los Santos et al., 2005), em perus e marrecos (Applegate et al., 2005) e codornas (Starck & Rahmaan, 2003). Estudos desta natureza visam assegurar que os animais tenham o máximo de desempenho do aparelho digestivo e sejam capazes de produzir quantidades suficientes de enzimas para suportar o aumento na quantidade de alimento ingerida baseado nas novas formulações das rações.

Anteriormente acreditava-se que as aves recém nascidas poderiam ficar dias sem se alimentar após o nascimento que não haveria prejuízos para os animais, pois estes se valeriam das reservas do saco vitelínico. Até hoje, às vezes, devido os criatórios serem distantes dos incubatórios, estes intervalos entre nascimento e início de alimentação ainda acontecem. Entretanto, Saki (2005) relatou que apesar dos pintinhos possuírem esta reserva de lipídios que são usadas como fonte de energia, ela não pode ser convertida em carboidratos e proteínas. Assim, o trato digestivo das aves fica prejudicado em relação ao crescimento e maturação. Também, Corless & Sell (1999) estudando o efeito da restrição alimentar e de água após o nascimento sobre o desenvolvimento físico e funcional do aparelho digestivo de perus jovens

observaram que este tipo de jejum atrasou o desenvolvimento do aparelho digestivo, prejudicou a utilização de nutrientes, reduziram tanto o ganho de peso como as atividades da amilase pancreática e tripsina aos 3 dias de idade.

Ao serem analisadas algumas tabelas de exigências nutricionais disponíveis, observa-se que não há uniformidade nos períodos referidos para as diferentes fases e nem para os níveis nutricionais recomendados (Rezende et al., 2004). Como a alimentação é responsável pelo maior custo da produção e a proteína da ração é o que mais onera o custo da alimentação, as necessidades básicas deste componente devem ser estabelecidas para otimizar o custo de produção tanto de carne como de ovos.

Pinto et al. (2002) estudando vários níveis de energia e de proteína para codornas em postura a partir de 45 dias observaram que 2850 kcal de EM/kg e 22,42% de proteína bruta (PB) foram os níveis que promoveram os melhores desempenhos. Freitas et al. (2005) também estudando o efeito dos níveis de proteína bruta e de energia metabolizável (EM) na dieta sobre o desempenho de codornas de postura, encontraram que 2585 kcal de EM/kg e 18% de PB, respectivamente, deram os melhores resultados, ambos divergindo do NRC, que indica 2900 kcal de EM/kg e 20% de PB. Os níveis ideais dos ingredientes das rações nem sempre são os mesmos para características diferentes. Podem variar para a conversão alimentar, produção de carcaça, produção de ovos e qualidade da casca do ovo.

Apesar de muitos autores levarem em consideração o nível de PB e EM, os resultados vão depender das relações dos aminoácidos, por isso, muitos trabalhos têm sido feitos na tentativa de se estabelecer as melhores relações entre estes e com outras substâncias, a fim de torná-los mais disponíveis e reduzir o custo da ração. Faure et al. (2005) testaram diversos níveis de treonina em ratos com dietas isonitrogênicas para ver se a deficiência de treonina era mais deletéria para a formação de mucina que os níveis de proteína na ração e concluíram que valores inferiores aos recomendados diminuiriam quantitativa e qualitativamente a síntese de mucinas, que segundo Webel et al. (1998) pode comprometer as funções de proteção do intestino.

Para codornas, a treonina assume papel mais importante ainda, pois é o terceiro aminoácido limitante (Kidd et al., 2001). É constituinte das mucinas presentes no intestino que tem a função de reduzir a capacidade das bactérias

e vírus de se ligarem à parede intestinal e também reduzir a absorção de toxinas. Sua deficiência na dieta pode reduzir a produção de mucina e, conseqüentemente, reduzir a capacidade do intestino em suas funções protetoras e alterar as características morfofuncionais da mucosa intestinal em relação às microvilosidades e profundidade das criptas. Fato este, que pode interferir diretamente na capacidade digestiva dos animais (Faure et al., 2005).

Mandal et al. (2006) avaliando três níveis de treonina em codornas de 0 a 5 semanas de idade, em relação ao crescimento e resposta imune, encontraram que a resposta imune não alterou significativamente, e o nível mais alto de treonina ($11,2 \text{ g/kg}^{-1}$) deu melhor rendimento de carcaça de 0 a 3 semanas e o menor nível ($9,6 \text{ g/kg}^{-1}$) melhor rendimento de 3 a 5 semanas. Portanto, para cada fase da vida, para cada fator estudado, pode haver um nível ideal de cada aminoácido. No presente trabalho avaliaram-se as atividades das enzimas hepáticas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) na fase inicial de crescimento de codornas de postura compreendendo um período de 1 a 25 dias. Subseqüentemente, avaliou-se, na fase de postura, a atividade das enzimas digestivas amilase, lipase do pâncreas e quimo e as enzimas AST e ALT no fígado e no soro sanguíneo, relacionadas ao metabolismo de aminoácidos para se determinar a relação entre os níveis de treonina na dieta e a atividade destas enzimas. E, assim, estabelecer bioquimicamente seus níveis mediante as alterações nas proporções deste aminoácido.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Atividade de enzimas digestivas

O intestino delgado é o principal sítio de digestão de proteínas, carboidratos e lipídios. As atividades das enzimas digestivas no fluido intestinal são responsáveis pela hidrólise e absorção dos nutrientes da dieta, visto que estes têm que ser totalmente hidrolisados para serem absorvidos, podendo a deficiência destas enzimas ser um fator limitante nos processos absorptivos e, conseqüentemente, afetando o crescimento das aves. Os níveis protéicos e de EM da dieta têm efeito direto nas atividades da α -amilase, lipase, tripsina, quimotripsina e dissacaridases pancreáticas e intestinais (Zhao et al., 2007).

As alterações nas atividades enzimáticas têm sido estudadas em frangos (Al-Marzooqi & Leeson, 2000; Yi et al., 2005; Solis de los Santos et al., 2005), em perus e marrecos (Applegate et al., 2005) e codornas (Starck & Rahmaan, 2003). Estes estudos visaram assegurar que os animais tenham o máximo de desempenho do aparelho digestivo e sejam capazes de produzir quantidades suficientes de enzimas para suportar o aumento na quantidade de alimento ingerida baseado nas novas formulações das rações.

Pubols (1991) trabalhando com frangos de corte aos 49 dias de idade estabeleceu as relações de concentração das enzimas pancreáticas, sendo a amilase cerca de 28,9%, tripsinogênio representou cerca de 10% e os três quimotripsinogênios (A, B e C) representaram cerca de 20% do total das enzimas. Também foram encontrados elastase, lipase e um inibidor de tripsina. Entretanto, vários fatores associados à ração e aos animais podem afetar estas relações e as atividades das enzimas, tais como: adição de polipeptídeos (Duke et al., 1979), probióticos (Lima et al., 2003), enzimas (Cowieson & Adeolat, 2005; Lima et al., 2003; Al-Marzooqi & Leeson, 2000), idade das matrizes (Maiorka et al., 2004), idade do animal (Krogdahl & Sell, 1989; Sell et al., 1991), tipo de acondicionamento do animal (gaiola ou piso) (Deaton et al., 1985), forma de apresentação da ração (farelada ou pelitizada) (Choi et al., 1986), espécie animal (Applegate et al., 2005) e linhagem (crescimento rápido

ou lento, postura) (O'Sullivan et al., 1992; Nitsan et al., 1991; Dunnington & Siegel, 1995).

Durante o período de incubação, os embriões retiram os nutrientes do ovo em geral, mas após o nascimento, o trato digestivo tem que se ajustar a uma fonte de alimento bastante complexa, em um tempo muito curto, fornecida através de rações (Sell, 1996). Nesta adaptação, deve ocorrer grandes transformações físicas e funcionais, para que sua capacidade de digerir e absorver alimentos não seja um fator limitante para a eficiência produtiva (Sell et al., 1991; Nitsan et al., 1991).

Ikeno & Ikeno (1991) estudando a atividade da α -amilase em ovos de galinhas poedeiras e codornas verificaram que a atividade desta enzima não alterou em ovos não fertilizados durante período de incubação. Contudo, em gemas de ovos fertilizados, a atividade da amilase aumentou consideravelmente com o desenvolvimento do embrião. No pâncreas, a atividade da amilase foi inicialmente detectada aos 6 dias de incubação desenvolvendo-se em quatro estágios, com maior desempenho após 19 dias, coincidindo com a maturação morfológica do órgão. Apesar de não se saber qual a função da α -amilase na gema embrionária, especula-se que pode servir como reserva para o pintinho ao nascer. Kulka & Duksin (1964) encontraram padrões de crescimento e atividade de amilase pancreática diferentes em embriões e em pintos recém nascidos. Maiorka et al. (2004) estudando o efeito da idade de matrizes de corte sobre o desenvolvimento do trato digestivo de embriões e pintinhos recém nascidos observaram que as atividades da amilase e tripsina no pâncreas e peso relativo do trato digestivo de embriões de matrizes de corte com 30 semanas foram menores que matrizes com 60 semanas de idade.

Anteriormente acreditava-se que as aves recém nascidas poderiam ficar dias sem se alimentar após o nascimento que não haveria prejuízos para os animais, pois estes se alimentariam das reservas do saco vitelínico. Porém, Corless & Sell (1999) estudando o efeito da restrição alimentar e de água após o nascimento sobre o desenvolvimento físico e funcional do aparelho digestivo de perus jovens observaram que 54 horas de jejum atrasaram o desenvolvimento do aparelho digestivo. Isto prejudicou a utilização de nutrientes, reduziu tanto o ganho de peso como a atividade da amilase

pancreática e da tripsina aos três e quatro dias de idade. Cançado & Baião (2002) estudando três períodos de jejum (zero, 24, 48 horas após o nascimento) e a adição de óleo na ração sobre o crescimento alométrico dos órgãos digestivos e atividade da lipase no pâncreas e quimo de pintos, observaram que o crescimento alométrico dos órgãos digestivos foi maior para as aves alojadas ao nascimento. A maior taxa de crescimento alométrico foi observada nos primeiros dias de vida. O conteúdo de lipase no quimo variou com a concentração de óleo na dieta. Pinchasov & Noy (1993) afirmaram que os fatores físicos do sistema gastrintestinal, como o comprimento e a área de superfície, limitam mais o crescimento precoce do que a disponibilidade de enzimas. Nir et al. (1993) demonstraram que, apesar de aves de corte terem apresentado crescimento alométrico do trato digestivo e fígado superiores às aves de postura, os animais de corte apresentaram atividades enzimáticas do quimo inferiores aos animais de postura, apontando uma deficiência nos animais selecionados para crescimento rápido.

Saki (2005) trabalhando com pintos de corte para testar o efeito do jejum após o nascimento verificou que ao final de 42 dias houve menor ganho de peso para animais que ficaram sem alimentar por 24 horas após o nascimento. Neste período o pintinho possui uma reserva de lipídeos que é usada como fonte de energia, mas não pode ser convertida em carboidratos e proteínas, então o trato digestivo das aves fica prejudicado com relação ao crescimento e maturação. Sklan & Noy (2000) estudando o efeito da restrição alimentar em pintos após o nascimento e a presença de sódio na ração, verificaram que, uma restrição alimentar de 48 horas resultou em diminuição do ganho de peso e atividades enzimáticas menores para amilase, lipase e tripsina. Adicionalmente, a presença de Na^+ na dieta interferiu na absorção dos aminoácidos e glicose. Os dois grupos que não receberam Na^+ na dieta, mas sofreram ou não a restrição alimentar, tiveram o seu ganho de peso diminuído, pois o Na^+ participa do co-transporte de glicose (Crane, 1965) e aminoácidos (Nakanashi et al., 1994) tendo um papel preponderante no desempenho dos animais.

A adição de enzimas na dieta das aves tem sido uma prática muito utilizada na tentativa de melhorar a digestibilidade dos constituintes da ração. Geralmente, as enzimas mais usadas são para hidrolisar proteínas, fibras

insolúveis e de baixa solubilidade como as pectinas, e para os fitatos que diminuem a digestibilidade das proteínas. Mas devem-se ter alguns cuidados, pois esta prática pode alterar as funções secretoras do pâncreas. Choct et al. (1995) avaliaram dois tipos de trigo (energia metabolizável aparente – EM – baixo e normal), com e sem adição de enzimas. Observaram que a adição de enzimas diminuiu a viscosidade da digesta, aumentou a EM aparente do trigo de baixa EM e aumentou o coeficiente de digestibilidade dos carboidratos e proteínas no intestino dos animais tratados com enzimas, aumentando o ganho de peso e a eficiência alimentar.

Características específicas dos animais também influenciam no valor energético e na digestibilidade dos alimentos, como por exemplo, a taxa de passagem do alimento no trato digestivo. Furlan (1996) estudando em codornas, o tempo de passagem do milho moído, dos farelos de trigo, de arroz e de canola, encontraram o tempo de 97,33; 82,33; 75,50 e 77,16 minutos respectivamente. Para frangos o tempo de passagem é estimado em 3 horas. Observaram, também, que codornas ajustam rapidamente o trato intestinal aos altos níveis de fibra bruta (FB) e o tempo médio de retenção da digesta para altos e baixos níveis de fibra na dieta. Segundo Furlan et al. (2001), isto se deve ao fato de que em codornas o ceco é relativamente maior em relação ao peso corporal, quando comparado com galinhas.

As atividades das enzimas digestivas também são influenciadas pelo período do dia e pela quantidade de proteína da dieta. A atividade da amilase, tripsina e quimotripsina são maiores no período diurno. Esta diferença foi atribuída ao fato de que a atividade quimo é dependente da secreção pancreática, que por sua vez depende da presença de alimento no intestino. Porém, um fato relevante observado é que a redução dos níveis protéicos da dieta afetou negativamente as atividades das enzimas α -amilase, lipase, dissacaridases e proteases (Zhao et al., 2007). Kamisoyama et al. (2009) afirmaram que os níveis da proteína na ração interferem na digestibilidade de carboidratos, lipídios e proteínas, através do estímulo que a proteína exerce sobre a secreção de colecistoquinina (CCK) e conseqüente secreção das enzimas digestivas. Todavia, não só os níveis de proteína da ração interferem na secreção das enzimas digestivas. Yang et al. (1989a) testaram o efeito da administração endovenosa de CCK com várias misturas de aminoácidos na

secreção das enzimas digestivas pancreáticas e observaram que a combinação de fenilalanina + treonina foi a mais efetiva em estimular a secreção das enzimas do que a associação de treonina + isoleucina ou fenilalanina + isoleucina. Sugeriram que a treonina e fenilalanina quando administrados simultaneamente podem ter um papel regulatório específico na secreção das enzimas digestivas de frangos. Contudo, Yang et al. (1989b) quando testaram isoladamente o efeito de vários aminoácidos observaram que em conjunto com CCK aumentaram a secreção de enzimas digestivas em diferentes graus, dependendo do tipo de aminoácido, sendo valina e arginina os mais efetivos. Mandal et al. (2006) também observaram que a treonina estava envolvida na secreção de amilase pelo pâncreas, relatando que a amilase é uma proteína que possui grande quantidade de treonina correspondendo a 110 mg.g^{-1} de proteína enzimática, portanto, a treonina pode ser essencial para a síntese da amilase.

2.2. Atividade de enzimas hepáticas

Alterações no fluxo através de uma via metabólica frequentemente alteram uma outra via. Isto é especialmente verdade para vias de utilização de macronutrientes. Por exemplo, a oxidação e glicólise competem diretamente em tecidos insulino-dependentes. A inibição de síntese de ácidos graxos leva a uma inibição da gliconeogênese, e a utilização de aminoácidos aparentemente compete com a glicólise em animais adultos, mas não em infantes. Estes exemplos mostram a complexidade da interação entre vias metabólicas de carboidratos, lipídios e utilização de proteínas.

Frequentemente associa-se a utilização de proteínas como forma de combustível metabólico somente quando estas estão acima da quantidade normalmente requerida para a síntese *de novo* pelo organismo. Esta hipótese está baseada no fato que as proteínas não são estocadas no corpo como uma fonte de energia prontamente disponível para o organismo. Contudo, o mecanismo que está por trás do controle da oxidação protéica ainda é pouco conhecido (Brooks & Lampi, 1995). O que ocorre é que muitas vezes é adotado o uso do balanço total de nitrogênio para o estudo da utilização dos aminoácidos. O balanço de nitrogênio somente mede a excreção total de

nitrogênio, e não um evento metabólico individual. Para suplantar este problema, pode-se adotar a análise de enzimas envolvidas diretamente com o metabolismo de aminoácidos como alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e glutamato desidrogenase (GDH). Contudo, as transaminases hepáticas podem alterar suas atividades em função da luminosidade do meio, sexo dos animais (Toropila et al., 2005), nível de gordura da dieta (Brooks & Lampi, 1995), nível de aminoácidos não-essenciais da dieta, (Guimarães et al., 1996) e nível de proteína da dieta (Truchlinski & Grela, 1987).

As transaminases (aminotransferases) correspondem a um importante grupo de enzimas que catalisam a transferência de um grupo amino de um aminoácido para um cetoácido. Possuem ampla distribuição em tecidos, especialmente cérebro, coração, rim, fígado e músculos, porém com diferentes distribuições quanto à espécie animal e ao tecido (Fairbrother et al., 1990).

Algumas transaminases são mitocondriais, algumas são citosólicas e outras estão presentes em ambos os compartimentos celulares (Swenson & Reece, 1996). ALT está presente no citoplasma de hepatócitos (Scholtz et al., 2009) enquanto que AST nas mitocôndrias (Bovera et al., 2007). São as transaminases mais importantes no diagnóstico clínico de diversas alterações metabólicas (Coles, 1974). No fígado, essas enzimas desempenham importante papel no metabolismo de aminoácidos. A AST está frequentemente envolvida com a transaminação de aminoácidos glicogênicos para a produção de glicose e ALT catalisa a transaminação de α -cetoglutarato e alanina formando glutamato e piruvato.

Devido suas importâncias, trabalhos têm sido realizados no intuito de quantificar a atividade dessas enzimas no fígado de frangos (Amubode & Fetuga, 1984), suínos (Balogun & Fetuga, 1980), ratos (Brooks & Lampi, 1995), aves silvestres (Franson et al., 1985) e codornas (Scholtz et al., 2009). Porém, as codornas recentemente têm sido preferidas como modelos de estudos destas enzimas, pois possuem vantagens como: boa adaptação em condições de laboratório, rápido crescimento, alta produção de ovos, curto intervalo reprodutivo, fácil manuseio e, além disso, são bastante resistentes a doenças (Scholtz et al., 2009). Como diversas situações metabólicas podem influenciar a atividade destas enzimas, além da quantidade de proteínas na dieta, por

exemplo, jejum ou mudança na composição da dieta em termos de gorduras, é recomendado adotar a atividade de enzimas presentes no fígado que não sofrem tais interferências para um controle. A aldolase (ALD) e a lactato desidrogenase (LDH) são bons modelos para este fim (Brooks & Lampi, 1995). Contudo, se houver suspeita de lesão muscular, a melhor escolha seria a determinação da atividade da creatina quinase (CK) no soro ou plasma sanguíneo para diferenciação, visto que a CK é uma enzima considerada músculo específica (Harr, 2002). Apesar de as análises dos níveis séricos de AST e ALT estarem geralmente associadas às lesões teciduais, deficiências dietéticas comuns devido a erros nas formulações são melhores determinadas através da quantificação das atividades destas enzimas (Bovera et al., 2007).

2.3. Níveis protéicos e relações aminoacídicas da dieta

O custo de produção de aves, assim como de codornas, é grandemente influenciado pelo alto preço das fontes protéicas da ração. A proteína, seguida pelo componente energético, é geralmente o nutriente mais caro. Entretanto, são escassos os estudos sobre planos de nutrição visando à redução dos níveis protéicos da ração e a suplementação com aminoácidos para esta espécie. Além das codornas serem mais exigentes em relação aos níveis protéicos da ração, seu consumo de ração corresponde a 14% do peso vivo (PV), enquanto o de galinhas é de apenas 7% do PV (Silva et al., 2006). Além disso, existem discrepâncias acerca das recomendações para codornas quanto aos níveis, às fases de crescimento e à aptidão produtiva das aves. Por exemplo, o NRC (1994) apresenta as exigências nutricionais para codornas destinadas à produção de ovos, mas não especifica a fase e a linhagem da ave.

O conceito de proteína ideal tem sido preferido em termos de preparo de rações (Djouvinov & Mihailov, 2005), porque desta forma permite-se que as mesmas possam ser formuladas com todos os aminoácidos balanceados e não em excesso. Existem poucos trabalhos sobre perfis de aminoácidos para poedeiras disponíveis na literatura. E, existem menos ainda trabalhos sobre a digestibilidade de aminoácidos realizados com poedeiras, limitando o seu uso na prática. A utilização de nutrientes, incluindo aminoácidos e energia, nos

ingredientes da dieta pode variar de acordo com o genótipo, o estado fisiológico da ave, a idade e o sexo das aves usadas no ensaio. A maioria dos dados publicados sobre digestibilidade de aminoácidos tem sido obtida da excreta de galos adultos, ou da digesta ileal de frangos, sendo uma prática comum adotar que não existe diferença de digestibilidade dentre as classes de aves, e estes valores de digestibilidade gerados com galos e frangos sendo amplamente usados nas formulações para poedeiras (Huang et al., 2007).

Apesar de muitos autores levarem em consideração o nível de proteína bruta e energia metabolizável, os resultados vão depender das relações dos aminoácidos. Portanto, o estabelecimento das melhores relações entre estes e com outras substâncias, podem fornecer dados mais precisos e auxiliar na elaboração de rações mais adequadas metabolicamente e com menor custo.

Huang et al. (2007) quando realizaram um teste de digestibilidade com oito ingredientes em frangos e poedeiras, verificaram que a digestibilidade ileal aparente dos aminoácidos foi diferente tanto entre ingredientes quanto entre frangos e poedeiras. Estes autores observaram que a digestibilidade ileal de proteína bruta assim como de aminoácidos em farelo de soja não foram diferentes entre frangos e poedeiras. No entanto, para farelo de canola a digestibilidade de treonina, valina, isoleucina, leucina, fenilalanina, ácido glutâmico e alanina foram maiores para frangos, enquanto que metionina, histidina e lisina foram maiores para poedeiras, e arginina, ácido aspártico, serina, glicina e tirosina foram similares para as duas classes de aves. Portanto, deve-se ter cuidado na utilização destes valores quando se utiliza fontes de proteínas diversas.

Os aminoácidos limitantes em dietas a base de soja e milho para aves são a metionina + cisteína, lisina e treonina. Apesar de a lisina ser o segundo limitante para aves, geralmente os níveis dos outros aminoácidos estão associados aos seus níveis quando se aplica o conceito de proteína ideal. A lisina é um dos aminoácidos mais tóxicos para aves, quando adicionado em excesso. Os sintomas de toxidez incluem dificuldade da ave em se levantar, permanecer de pé e com andar cambaleante. As aves permanecem em decúbito lateral, com passos no sentido transversal à linha dorsal, como se um lado fosse mais pesado que o outro (Silva et al., 2006). Urdaneta-Rincon & Leeson (2004) observaram que em frangos aos 21 dias de idade o conteúdo de

lisina, bem como o de proteína bruta (PB) foram mais importante para o desempenho animal do que para o empenamento, porém a deficiência de lisina produziu a despigmentação das penas em frangos e codornas.

Pophal et al. (2004) avaliaram a atividade mitótica das células satélites no músculo *Pectoralis thoracicus* em frangos de corte alimentados com diversos níveis de lisina até o terceiro dia após o nascimento, mais um grupo que não foi alimentado no mesmo período. Observaram que o tratamento que recebeu quantidade de 0,825% de lisina digestível apresentou maior atividade mitótica, e o grupo que não se alimentou teve menor atividade, comprovando que a lisina é essencial para esta função. Conseqüentemente, garantindo o maior desenvolvimento do músculo na idade de abate do frango. Isto porque as células satélites nos primeiros dias de vida se fundem às miofibrilas e fornecem seus núcleos, aumentando o tamanho das mesmas (Remignon et al., 1995).

Garcia & Batal (2005) estudando as necessidades de lisina e metionina em frangos de corte do zero aos 21 dias de idade, observaram que a necessidade de lisina tendeu a aumentar e a de metionina tendeu a diminuir. Porém, não foi necessário um tratamento diferenciado na primeira semana, pois, a diferença não foi significativa durante todo o tratamento. Pinto et al. (2003) trabalhando com codornas japonesas para estabelecer suas exigências para metionina e cistina, observaram que, para uma ração com 19,29% de PB e 2900 Kcal de EM/kg, 0,78% foi a melhor relação metionina + cistina digestível/lisina digestível, e que valores superiores pioraram a produção de ovos. Os aminoácidos sulfurados para aves também são de grande importância na formação de músculos e, principalmente, das penas. A síntese da queratina das penas é principalmente relacionada com o conteúdo de aminoácidos sulfurados da dieta. A metionina e a cistina respondem respectivamente por 0,7 e 5,5% do conteúdo de aminoácidos das proteínas das penas (Urdaneta-Rincon & Leeson, 2004).

A glutamina apesar de não ser um aminoácido essencial, tem sido objeto de muitos estudos. A sua adição na ração promove melhoria nas condições da mucosa do trato digestivo, aumentando a profundidade das criptas e altura das vilosidades, apesar de não ter sido observado melhoria nas qualidades zootécnicas (conversão alimentar, ganho de peso, consumo de ração) (Maiorka et al., 2000). Yi et al. (2001) também não encontraram

diferenças quando adicionaram 1% de glutamina na ração à base de soja e milho. Os mesmos autores em outro experimento (Yi et al., 2005), quando testaram 1% de glutamina nas rações de frangos submetidos a jejum de 48h após o nascimento e desafiados com *Eimeria máxima*, observaram um efeito positivo. Demonstrando sua importância em condições de desafio.

A treonina é constituinte das mucinas presentes no intestino que têm função de reduzir a capacidade das bactérias e vírus de se ligarem à parede intestinal e também reduzir a absorção de toxinas. A deficiência de treonina na dieta pode reduzir a produção de mucinas e, conseqüentemente, reduzir a capacidade do intestino em suas funções protetoras. O fluxo de mucinas contribui para as perdas endógenas de proteínas, resultando em baixa digestibilidade aparente, principalmente de treonina e serina. Alimentos com altos teores de fibra ou que contenham fatores anti-nutricionais promovem o aumento da secreção de mucinas pelo intestino, reduzindo a digestibilidade das proteínas (Quigley, 2001). Faure (2005) testou diversos níveis de treonina em ratos com dietas isonitrogênicas para averiguar se a deficiência de treonina era mais deletéria para a formação de mucina que os níveis de proteína na ração. Concluiu que valores inferiores aos recomendados diminuíram quantitativamente e qualitativamente a síntese de mucinas, que segundo Weibel et al. (1998) pode comprometer as funções de proteção do intestino.

Baker et al. (2002) avaliaram os níveis de lisina e treonina bem como suas relações, encontrando para a treonina um valor de 55,7% em relação a lisina. Mandal et al. (2006) avaliaram três níveis de treonina em codornas de 0 a 5 semanas de idade em relação ao crescimento e resposta imune. A resposta imune não alterou significativamente, e o nível mais alto de treonina (11,2 g/kg⁻¹) apresentou melhor rendimento de carcaça de 0 a 3 semanas e o menor nível (9,6 g/kg⁻¹) melhor rendimento de 3 a 5 semanas.

A produção de muco pelo epitélio intestinal contribui para sua camada de água protetora, a qual influencia a recuperação de nutrientes do lúmen durante a digestão, (Specian & Oliver, 1991). O muco consiste de uma glicoproteína de alto peso molecular (Specian & Oliver, 1991), com a treonina representando cerca de 40% da proteína.

O conteúdo de treonina da pena e carcaça é de 4,9 e 4,2%, respectivamente (Stilborn et al., 1997). A treonina incorporada nas penas

também não está disponível para reutilização. Contudo, nos outros tecidos corporais ela pode ser reutilizada. Embora o conteúdo de treonina nas proteínas intestinais, coração, fígado e pulmões sejam similares ao conteúdo da carcaça, enzimas digestivas possuem maior conteúdo de treonina variando de 5 a 11% (Dozier et al., 2001).

Em suínos, aproximadamente 50% do requerimento dietético de treonina é utilizado pela mucosa intestinal (Stoll et al., 1998; Wu, 1998). Bertolo et al. (1998) examinaram a necessidade de treonina em suínos de três dias de idade com fornecimento parenteral e endovenoso. Os animais que receberam nutrição intragástrica tiveram 45% mais necessidade diária de treonina para manutenção do balanço de nitrogênio que os que receberam nutrição endovenosa. Quando as necessidades de treonina do intestino são atingidas, o restante passa para o sistema porta para o uso pelo corpo.

Devido ao fato da treonina estar em grande quantidade nas proteínas diretamente associadas com a mucosa gastrintestinal e com às enzimas digestivas no lúmen necessárias para a recuperação eficiente dos nutrientes, dietas com baixo teor de treonina podem afetar negativamente a eficiência destes processos de captação de nutriente (Dozier et al., 2001).

Os níveis de treonina também interferem na retenção de nitrogênio e recuperação de energia metabolizável (AME_n). Dozier et al. (2001) demonstraram que frangos machos que receberam dietas com níveis adequados de treonina tiveram a vantagem de reter mais nitrogênio e recuperação de AME_n em relação aos machos que receberam dietas com baixos valores de treonina. No caso das fêmeas, estas foram similares nas duas concentrações de treonina correspondendo a concentração adequada para os machos. A administração de aminoácidos como treonina, arginina e ou valina em associação com a CCK produziu aumento na secreção de enzimas digestivas (Yang et al., 1989b).

Considerando que o intestino está posicionado como a primeira linha de defesa do corpo, um comprometimento da barreira de muco intestinal pode comprometer funcionalmente a defesa imune contra bactérias intestinais. A diversidade da estrutura de carboidratos da mucina é grande e provê um variado arranjo de oportunidade de ligações para microrganismos comensais e patogênicos. Mediante estas ligações a camada de mucina previne o acesso

de microrganismos ao epitélio, onde podem ocorrer processos inflamatórios. A deficiência de treonina na dieta pode comprometer a qualidade e a quantidade destas mucinas e isto pode causar diarreia severa em suínos (Law et al., 2007).

A treonina é o terceiro aminoácido limitante para aves, antecedido apenas pela lisina e metionina (Kidd et al., 2001). As fontes protéicas vegetais comumente usadas possuem quantidades inferiores às recomendadas em relação à lisina. Assim, muitos autores têm pesquisado a adição deste aminoácido na forma sintética (Kidd et al., 2005) com o objetivo de melhorar os parâmetros zootécnicos, reduzir o custo de produção e também reduzir a eliminação de nitrogênio no meio ambiente, através da diminuição dos níveis protéicos da dieta, que serve como poluente do meio ambiente (Lemme et al., 2004).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBINO, L. F. T.; BARRETO, S. L. T. **Codornas: Criação de codornas para produção de ovos e carne.** Viçosa, MG: Aprenda Fácil, 2003, 289p.

AL-MARZOOQI, W.; LEESON, S. Effect of dietary lipase enzyme on gut morphology, gastric motility and long-term performance of broiler chicks. **Poultry Science.** v.79, p.956-960, 2000.

AMUBODE, F.O.; FETUGA, B.L. The influence of dietary methionine, protein, and energy levels on glutamic-oxalacetate and glutamic-pyruvate transaminases of chickens. **Beitr Trop Landwirtsch Veterinarmed.** v.22, n.2, p.193-200, 1984.

APPLEGATE, T. J.; KARCHER, D. M.; LILBURN, M. S. Comparative development of the small intestine in the turkey poult and Pekin duckling. **Poultry Science.** v;84, p.426-431, 2005.

BAKER, D. H.; BATAL, A. B.; PARR, T. M.; AUGSPURGER, N. C.; PARSONS, C. M. Ideal ratio (relative to lysine) of tryptophan, threonine, isoleucine, and valine for chicks during the second and third weeks posthatch. **Poultry Science.** v.81, p.485-494, 2002.

BALOGUN, O.O.; FETUGA, B.L. Liver glutamate-oxalate transaminase and glutamate-pyruvate transaminase activity in pigs as influenced by dietary methionine and lysine levels. **Biochemistry and Experimental Biology,**

v.16, n.1, p.42-50, 1980.

BARRETO, S.L.T.; ARAÚJO, M.S.; TIE, R.U.; DONZELE, J.L.; ROCHA, T.C.; PINHEIRO, S.R.F.; TEIXEIRA, R.B.; ABREU, F.V.S.; SILVA, R.F. Exigência nutricional de lisina para codornas européias machos de 21 a 49 dias de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.3, n.3, p.750-753, 2006.

BERTOLO, R.F.P.; CHEN, C.Z.L.; LAW, G.; PENCHARZ, P.B.; BALL, R.O. Threonine requirement of neonatal piglets receiving total parenteral nutrition is considerably lower than that of piglets receiving an identical diet intragastrically. **The Journal of Nutrition**. v.128, n.10, p.1752-1759, 1998.

BOVERA, F.; MONIELLO, G.; De RIU, N.; Di MEO, C.; PINNA, W.; NIZZA, A. Effect of diet on the metabolic profile os ostriches (*Struthio camelus* var. *domesticus*). **Tropical Animal Health Production**. v.39, p.265-270, 2007.

BROOKS, S.P.J.; LAMPI, B.J. The effect of changing dietary fat and carbohydrate on the enzyme of amino acid metabolism. **Nutritional Biochemistry - Research Communications**. v.6, p.414-421, 1995.

CANÇADO, S. V.; BAIÃO, N. C. Efeitos do período de jejum entre o nascimento e o alojamento de pintos de corte e da adição de óleo à ração sobre o desenvolvimento do trato gastrintestinal e concentração de lípase. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.54, n.6, p.623-629, 2002.

CHOCT, M.; HUGHES, R. J.; TRIMBLE, R. P.; ANGKANAPORN, K.; ANNISON, G. Non-starch polysaccharide-degrading enzymes increase the performance of broiler chickens fed wheat of low apparent metabolizable energy. **Journal Nutrition**. v.125, n.3, p.485-492, 1995.

CHOI, J. H.; SO, B. S.; RYU, K. S.; KANG, S. L. Effect of pelleted or crumbled diets on the performance and the development of the digestive organs of broilers. **Poultry Science**, v.65, p.594-597, 1986.

COLES, E.H. **Liver Function. Veterinary Clinical Pathology**. 2ª edição, Philadelphia: Saunders, 1974. 165p.

CORLESS, A. B.; SELL, J. L. The effects of delayed to feed and water on the physical and functional development of the digestive system of young turkeys. **Poultry Science**. v.78, p.1158-1169, 1999.

COWIESON, A. J.; ADEOLAT, O. Carbohydrases, protease and phytase have additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry Science**. v.84, p.1860-1867, 2005.

CRANE, R. K. Na⁺ dependent transport in the intestine and other animal tissues. **Federation Proceedings**. v.24, n.5, p.1000-1004, 1965.

DEATON, J. W.; BRANTON, S. L.; LOTT, B. D. Noted difference in the digestive system in caged and floor-reared commercial egg-type pullets.

- Poultry Science**, 64:1035-1037, 1985.
- DJOUVINOV, D.; MIHAILOV, R. Effect of low protein level on performance of growing and laying Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**. v.8, n.2, p.91-98, 2005.
- DOZIER, W.A.; MORAN, E.T.; KIDD, M.T. Male and female broiler responses to low adequate dietary threonine on nitrogen and energy balance. **Poultry Science**. v.80, p.926-930, 2001.
- DUKE, G. E.; KIMMEL, R. J.; REDIG, P. T.; POLLOCK, H. G. Influence of exogenous avian pancreatic polypeptide on gastrointestinal motility in turkeys. **Poultry Science**. v.58, n.1, p.239-246, 1979.
- DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B. Enzyme activity and organ development in newly hatched chicks selected for high eight-week body weight. **Poultry Science**. v.74, n.5, p.761-770, 1995.
- FAIRBROTHER, A.; CRAIG, M.A.; WALKER, K.; LOUGHLIN, D. Changes in Mallard (*Anas platyrhynchos*) serum chemistry due to age, sex, and reproductive condition. **Journal of Wildlife Diseases**. v.21, n.1, p.67-77, 1990.
- FAURE, M.; MOËNNOZ, D.; MONTIGON, F.; METTRAUX, C.; BREUILLÉ, D.; BALLÈVRE, O. Dietary threonine restriction specifically reduces intestinal mucin synthesis in rats. **Journal Nutrition**. v.135, p.486-491, 2005.
- FRANSON, J.C.; MURRAY, H.C.; BUNCK, C. Enzyme activities in plasma, kidney, liver, and muscle of five avian species. **Journal of Wildlife Diseases**. v.21, n.1, p.33-39, 1985.
- FREITAS, A. C.; FUENTES, M. F. F.; FREITAS, R. F.; SUCUPIRA, F. S.; OLIVEIRAS, B. C. M. Efeito de níveis de proteína bruta e de energia metabolizável na dieta sobre o desempenho de codornas de postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.34, n.3, 2005.
- FURLAN, R. L. Efeito da restrição alimentar sobre o crescimento e composição da carcaça de frangos de corte. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 102p., (Tese, Doutorado), 1996.
- FURLAN, R. L.; CARVALHO, N. C.; MALHEIROS, E. B.; MACARI, M. Efeito da restrição alimentar inicial e da temperatura ambiente sobre o desenvolvimento de vísceras e ganho compensatório em frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 53, n. 4, 2001.
- GARCIA, A.; BATAL, A. B. Changes in the digestible lysine and sulfur amino acid needs of broiler chicks during the first three weeks posthatching. **Poultry Science**. V.84, p.1350-1355, 2005.
- GUIMARÃES, V. M.; MORAES, G. H. K.; FONSECA, J. B.; ROSTAGNO, H. S. Efeitos de aminoácidos não essenciais da dieta sobre glutamato-oxaloacetato transaminase hepática e composição química parcial de tíbias

- e fêmures de pintos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.25, n.3, p.481-493, 1996.
- HARR, K.E. Clinical chemistry of companion avian species: A review. **Veterinary Clinical Pathology**. v.31, n.3, p.140-151, 2002.
- (<http://www.sidra.ibge.gov.br>) SITE ACESSADO EM 09/03/2006.
- (<http://www.calfnotes.com>) SITE ACESSADO EM 03/03/2006. Written by Dr. Jim Quigley (18 February 2001).
- HUANG, K.H.; RAVINDRAN, V.; LI, X.; RAVINDRAN, G.; BRYDEN, W.L. Apparent ileal digestibility of amino acids in feed ingredients determined with broilers and layers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.87, p.47-53, 2007
- IKENO, T.; IKENO, K. Amylase activity increases in the yolk of fertilized eggs during incubation in chickens. **Poultry Science**. v.70, p.2176-2179, 1991.
- INSTITUTO NACIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE - INRA. **Alimentação dos animais domésticos: suínos, coelhos e aves**. 2.ed. São Paulo: Roca, 1999. 245p.
- KAMISOYAMA, H.; HONDA, K.; ISSHIKI, Y.; HASEGAWA, S. Effects of dietary protein levels on the nutrition digestibility at different sites of chickens intestines. **Journal of Poultry Science**. v.46, p.193-197, 2009.
- KESTIN, S.C.; SU, G.; SORENSEN, P. Different commercial broiler crosses have different susceptibilities to leg weakness. **Poultry Science**. v.78, p.1085-1090, 1999.
- KIDD, M.T.; GERARD, P.D.; HEGER, J.; KERR, B.J.; ROWE, D.; SISTANI, K.; BURNHAM, D.J. Threonine and crude protein responses in broiler chicks. **Animal Feed Science and Technology**. v.94, p.57-64, 2001.
- KIDD, M. T.; VIRDEN, W. S.; CORZO, A.; DOZIER, W. A.; BURNHAM, D. J. Amino acid density and L-threonine responses in ross broilers. **International Journal of Poultry Science**. v.4, n.5, p.258-262, 2005.
- KROGDAHL, A.; SELL, J. L. Influence of age on lipase, amylase and protease activities in pancreatic tissue and intestinal contents of young turkeys. **Poultry Science**. v.68, p.1561-1568, 1989.
- KULKA, R. G.; DUKSIN, D. Patterns growth and α -amylase activity in the development chick pancreas. **Biochimica et Biophysica Acta**. v.91, p.506-514, 1964.
- LAW, G.K.; BERTOLO, R.F.; ADJIRI-AWERE, A.; PENCHARZ, P.B.; BALL, R.O. Adequate oral threonine is critical for mucin production and gut function in neonatal piglets. **American Journal Physiol. – Gastrointestinal and Liver Physiology**. v.292, p.1293-1301, 2007.

- LEMME, A.; FRACKENPOHL, U.; PETRI, A.; MEYER, H. Effects of reduced dietary protein concentrations with amino acid supplementation on performance and carcass quality in turkey Toms 14 to 140 days of age. **International Journal of Poultry Science**. v.3, n.6, p.391-399, 2004.
- LIMA, A. C. I.; PIZAURO Jr, J. M.; MACARI, M.; MALHEIROS, L. B. Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.32, n.1, p.200-207, 2003.
- MANDAL, A. B.; KAUR, S.; JOHRI, A. K.; ELANGOVAM, A. V.; DEO, C.; SHRIVASTAVA, H. P. Response of growing Japanese quails to dietary concentration of L-threonine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.86, p.793-798, 2006.
- MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SILVA, A.V.F.; ROUTMAN, K.S.; PIZAURO Jr, J. M.; MACARI, M. Effect of broiler breeder age on pancreas enzymes activity and digestive tract weight of embryos and chicks. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. v.6, n.1, p.19-22, 2004.
- MAIORKA, A.; SILVA, A.V.F.; SANTIN, E.; BORGES, S.A.; BOLELI, I.C.; MACARI, M. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.52, n.5, p.487-490, 2000.
- MURAKAMI, A. E. Nutrição e alimentação de codornas japonesas em postura. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, XXXIX, Recife. 2002. **Anais**. Recife: SBZ, p.283-309, 2002.
- NAKANASHI, M.Y.; KAGAWA, Y.; NARITA, Y.; HIRATA, H. Purification and reconstitution of an intestinal Na(+) dependent neutral L-alpha amino acid transporter. **The Journal of Biological Chemistry**. v.269, p.9325-9329, 1994.
- National Research Council - NRC. **Nutrient requirements of poultry**. 9.ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1994, 155p
- NIR, I.; NITSAN, Z.; MAHAGNA, M. Comparative growth and development of the digestive organs and of some enzymes in broiler and egg type chicks after hatching. **British Poultry Science**. v.34, p.523-532, 1993.
- NITSAN, Z.; DUNNIGTON, E.A.; SIEGEL, P.B. Organ growth and digestive enzyme levels to fifteen days of age in lines of chickens differing in body weight. **Poultry Science**. v.70, p.2040-2048, 1991.
- O'SULLIVAN, N.P.; DUNNIGTON, E.A.; LARSEN, A.S.; SIEGEL, P.B. Correlated responses in lines of chickens divergently selected for fifty-six day body weight. 3. digestive enzymes. **Poultry Science**. v.71, p.610-617, 1992.

- PINCHASOV, Y.; NOY, Y. Comparison of post-hatch holding time and subsequent early performance of broiler chicks and turkey poults. **British Poultry Science**. v. 34, p.117-120, 1993.
- PINTO, R.; DONZELE, J.L.; FERREIRA, A.S.; ALBINO, L.F.T.; SOARES, R.T. R. N.; SILVA, M. A.; PEREIRA, T. A. Exigência de metionina mais cistina para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.32, n.5, p.1174-1181, 2003.
- PINTO, R.; FERREIRA, A.S.; ALBINO, L.F.T.; GOMES, P. C.; VARGAS Jr., J. G. Níveis de proteína e energia para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.4, p.1761-1770, 2002.
- POPHAL, S.; MOZDZIAK, P. E.; VIEIRA, S. L. Satellite cell mitotic activity of broilers fed differing levels of lysine. **International Journal of Poultry Science**. v.3, n.2, p.758-763, 2004.
- PUBOLS, M. H. Ratio of digestive enzymes in the chick pancreas. **Poultry Science**. v.70, p.337-342, 1991.
- REMIGNON, H., GARDAHAUT, M. F.; MARCHE, G.; RICARD, F. -H. Selection for rapid growth increases the number and the size of muscle fibres without changing their typing in chickens. **Journal of Muscle Research and Cell Motility**. v.16, p.95-102, 1995.
- REZENDE, M. J. M.; FLAUZINA, L. P.; McMANUS, C.; OLIVEIRA, L. Q. M. Desempenho produtivo e biometria das vísceras de codornas francesas alimentadas com diferentes níveis de energia metabolizável e proteína bruta. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. v.6, n.3, p.353-358, 2004.
- SAKI, A. A. Effect of post-hatch feeding on broiler performance. **International Journal of Poultry Science**. v.4, n.1, p.4-6, 2005.
- SCHOLTZ, N.; HALLE, I.; FLACHOWSKY, G.; SAUERWIEN, H. Serum chemistry reference values in adult Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) including sex-related differences. **Journal of Poultry Science**. v.88, p.1186-1190, 2009.
- SELL, J. L.; ANGEL, C. R.; PIQUER, F. J.; MALLARINO, E. G.; AL-BATSHAN, H. A. Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. **Poultry Science**. v.70, n.5, p.1200-1205, 1991.
- SELL, J.L. Physiological limitations and potential for improvement in gastrointestinal tract function of poultry. **Journal Applied Poultry Research**. v.5, p.96-101, 1996.
- SILVA, E.L.; SILVA, J.H.V.; JORDÃO FILHO, J.; RIBEIRO, M.L.G.; COSTA, F.G.P.; RODRIGUES, P.B. Redução dos níveis de proteína e suplementação aminoacídica em rações para codornas européias (*Coturnix coturnix coturnix*). **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.35, n.3, p.822-829,

2006.

- SKLAN, D.; NOY, Y. Hydrolysis and absorption in the small intestines of posthatch chicks. **Poultry Science**. v.79, p.1306-1310, 2000.
- SOLIS de los SANTOS, F.; TELLEZ, G.; FARNELL, M. B.; BALOG, J. M.; ANTHONY, N. B.; PAVLIDIS, H. O.; DONOGHUE, A. M. Hypobaric hypoxia in ascites resistant and susceptible broiler genetic lines influences gut morphology. **Poultry Science**. v.84, p.1495-1498, 2005.
- SPECIAN, R.D.; OLIVER, M.G. Functional biology of intestinal goblet cells. **American Journal of Physiology – Cell Physiology** v.260, p.C183-C193, 1991.
- STARCK, J. M.; RAHMAAN, G. H. A. Phenotypic flexibility of structure and function of the digestive system of Japanese quail. **The Journal of Experimental Biology**. v.206, p.1887-1897, 2003.
- STILBORN, H.L.; MORAN Jr., E.T.; GOUS, R.M.; HARRISON, M.D. Effect of age on feather amino acid content in two broiler strain crosses and sexes. **Journal of Applied Poultry Research**. v.6, p.205-209, 1997.
- STOLL, B.; HENRY, J.; REEDS, P.J.; YU, H.; JAHOOR, F.; BURRIN, D.G. Catabolism dominates the first-pass intestinal metabolism of dietary essential amino acids in milk protein-fed piglets. **The Journal of Nutrition**. v.128, p.606-614, 1998.
- SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11^a Edição, 1996. 856p.
- TOROPILA, M.; NOVÁKOVÁ, J.; DANOVA, D.; PALUCHOVÁ, K.; KAFKA, I.; LAKTICOVÁ, K. Changes in the activity of selected adaptive enzymes in laboratory rats in relation to sex during prolonged fasting. **Folia Veterinaria**. v.49, n.3, p.48-50, 2005.
- TRUCHLINSKI, J.; GRELA, E. Alanine and aspartate transaminase and acid and alkaline phosphatase activities in the blood serum in relation to the protein and energy levels in the pig's feeds. **Polskie Archiwum Weterynaryjne**. v.27, n.2, p.129-136, 1987.
- URDANETA-RINCON, M.; LEESON, S. Effect of dietary crude protein and lysine on feather growth in chicks to twenty-one days of age. **Poultry Science**. v.83, p.1713-1717, 2004.
- WEBEL, D. M.; JOHNDON, R. W.; BAKER, D. H. Lipopolysaccharide-induced reductions in food intake do not decrease the efficiency of lysine and threonine utilization for protein accretion in chickens. **The Journal of Nutrition**. v.128, n.10, p.1760-1766, 1998.
- WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. **The Journal of Nutrition**. v.128, p.1249-1252, 1998.

- YANG, S.I.; FURUSE, M.; MURAMATSU, T.; OKUMURA, J. Responses of the pancreatic digestive enzyme secretion to various combinations of amino acids and cholecystinin in chicks (*Gallus domesticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology. Advances in Comparative Physiology.** v.93, n.4, p.703-706, 1989a.
- YANG, S.I. MURAMATSU, T.; TASAKI, I.; OKUMURA, J. Responses of the pancreatic digestive enzyme secretion to amino acids, glucose and cholecystinin in chicks.). **Comparative Biochemistry and Physiology. Advances in Comparative Physiology.** v.92, n.3, p. 313-317, 1989b.
- YI, G. F.; ALLEE, G. L. ; FRANK, J. W.; SPENCER, J. D.; TOUCHETTE, K. J. Impact of glutamine, menhaden fish meal and spray-dried plasma on the growth and intestinal morphology of broilers. **Poultry Science**, v.80 (Suppl. 1):201, 2001.
- YI, G. F.; ALLEE, G. L.; KNIGHT, C. D.; DIBNER, J. J. Impact f glutamine and oasis hatchling supplement on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. **Poultry Science**. v.84, p.283-293, 2005.
- ZHAO, F.; HOU, S.S.; ZHANG, H.F.; ZHANG, Z.Y. Effects of dietary metabolizable energy and crude protein content on the activities of digestive enzymes in jejuna fluid of peking ducks. **Poultry Science**. v.86, p.1690-1695, 2007.

CAPÍTULO I

Perfil da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase e biometria do fígado de codornas japonesas na fase de crescimento

1. INTRODUÇÃO

O fígado é um órgão central nos processos metabólicos, exercendo múltiplas e importantes funções, centralizando a maior parte do processo homeostático do organismo. Participa dos processos de digestão e de absorção intestinal através da síntese dos ácidos biliares, também possui relevante papel no metabolismo dos carboidratos, das proteínas e dos nucleotídeos, além de fundamentais funções na detoxicação de metabólitos. Nas aves apresenta-se normalmente sobrecarregado, pois não possuem sistema linfático plenamente desenvolvido. Assim, a gordura da dieta é totalmente levada ao fígado pelo sistema porta-hepático na forma de portomícrons. Além disso, é o único órgão responsável pela síntese *de novo* das gorduras de reserva provenientes do excesso de carboidratos da dieta.

Por ser um órgão atuante em diversas atividades metabólicas, a avaliação das atividades de enzimas de certas vias pode predizer seu status metabólico e sua capacidade de modificar suas atividades frente às diferentes alterações das condições do meio ambiente e das dietas. As transaminases hepáticas podem alterar suas atividades em função da luminosidade do meio, sexo dos animais (Toropila et al., 2005), nível de aminoácidos não-essenciais da dieta (Guimarães et al., 1996), nível de proteína da dieta (Truchlinski & Grela, 1987) e nível de gordura da dieta (Brooks & Lampi 1995).

As transaminases (aminotransferases) correspondem a um importante grupo de enzimas que catalisam a transferência de um grupo amino de um aminoácido para um cetoácido. Alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) são as transaminases mais importantes no diagnóstico clínico de diversas alterações metabólicas (Coles, 1974). Possuem ampla distribuição em tecidos, especialmente cérebro, coração, rim e fígado. Algumas transaminases são mitocondriais, algumas são citosólicas e outras estão presentes em ambos os compartimentos celulares (Swenson & Reece, 1996). No fígado, essas enzimas desempenham um importante papel no metabolismo de aminoácidos. Devido a sua importância, trabalhos têm sido realizados no intuito de quantificar a atividade dessas enzimas no fígado de frangos (Amubode & Fetuga, 1984), suínos (Balogun & Fetuga, 1980), ratos (Brooks & Lampi, 1995) e em aves silvestres (Franson et al., 1985). Assim, objetivou-se

determinar o perfil enzimático da alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) no fígado de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*) nas idades de 1 a 25 dias, alimentados com dieta à base de milho e soja balanceadas de acordo com a NRC.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. Noventa codornas fêmeas (*Coturnix coturnix japonica*) com um dia de idade foram alojadas em boxes, forrados com maravalha (5 cm). A temperatura foi mantida entre 33 e 36°C, na primeira semana, com redução de aproximadamente de 3°C semanais, sendo que no 17º dia de idade foi suspenso o fornecimento de aquecimento às aves, permanecendo estas em temperatura ambiente. A água foi fornecida em bebedouro tipo copo de pressão e a ração em comedouro tipo bandeja.

As rações compostas principalmente por milho e farelo de soja (Tabela 1) foram balanceadas segundo as recomendações do NRC (1994).

Tabela 1 - Composição em ingredientes e nutricional da dieta para codornas nas fases de cria e recria, na matéria natural

INGREDIENTES	
Milho	52,80
Farelo de soja (45%)	42,80
Fosfato Bicálcico	0,96
Calcário	1,07
Óleo Vegetal	1,71
Sal	0,26
DL-Metionina (99%)	0,14
Avilamicina ¹	0,01
Anticoccidiano ²	0,05
Suplemento Mineral ³	0,05
Suplemento Vitamínico ⁴	0,10
Antioxidante ⁵	0,01
Total	100,00
Composição Calculada	
Proteína Bruta (%)	24,02
EM (Kcal/kg)	2.900,00
Ca (%)	0,80
P disponível (%)	0,35
Na (%)	0,15
Lisina total (%)	1,32
Lisina digestível (%)	1,19
Metionina+Cistina total (%)	0,88
Metionina+Cistina digestível (%)	0,79
Metionina total (%)	0,51
Metionina digestível (%)	0,47
Triptofano total (%)	0,31
Triptofano digestível (%)	0,28
Treonina total (%)	0,94
Treonina digestível (%)	0,82

¹ Surmax[®]

² Coxistac[®] 12%

³ Composição/kg de produto: Mn: 160 g, Fe: 100 g, Zn: 100 g, Cu: 20 g, Co: 2 g, I: 2 g, Excipiente q.s.p.: 1000 g

⁴ Composição/kg de produto: Vit. A: 12.000.000 U.I., Vit. D₃: 3.600.000 U.I., Vit. E: 3.500 U.I., Vit. B₁: 2.500 mg, Vit. B₂: 8.000 mg, Vit. B₆: 5.000 mg, Ácido pantotênico: 12.000 mg, Biotina: 200 mg, Vitamina K: 3.000 mg, Ácido fólico: 1.500 mg, Ácido nicotínico: 40.000 mg, Vit. B₁₂: 20.000 mg, Se: 150 mg, Veículo q.s.p.: 1.000 g

⁵ Butil-hidróxi-tolueno

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis idades e cinco repetições, sendo cada animal uma unidade experimental. Os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão (teste t com 5% de probabilidade), no coeficiente de determinação e no fenômeno biológico. Foi utilizado o programa Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas – SAEG (UFV, 2000).

Aos 1, 5, 10, 15, 20 e 25 dias de idade foram pesadas e posteriormente sacrificadas cinco aves. Os fígados foram pesados, identificados, congelados em nitrogênio líquido e armazenados a -20°C. A uma alíquota de 100 mg de fígado foram adicionados 10 mL de água destilada e deionizada gelada e

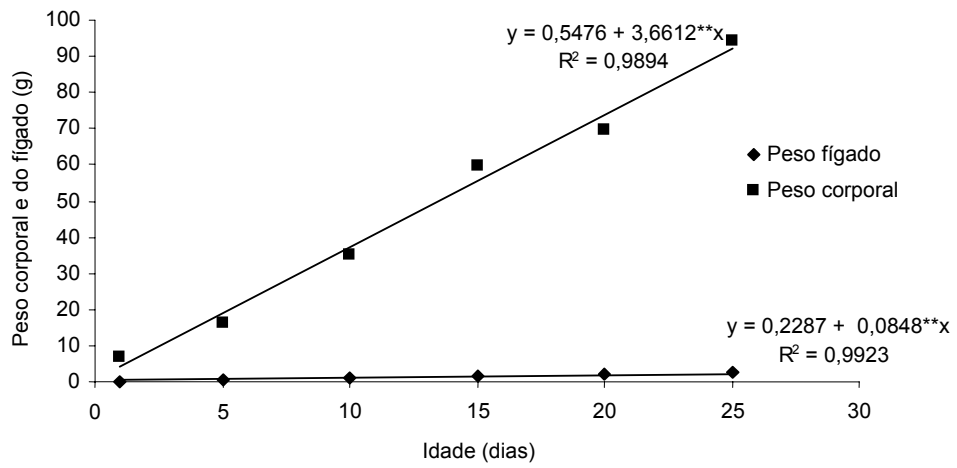
homogeneizada (Homogeinizador, modelo TE-099, Tecnal). As amostras foram então centrifugadas a $7100 \times g$ por 10 minutos. Os sobrenadantes obtidos foram utilizados para as determinações das atividades das enzimas ALT e AST e do teor de proteína solúvel total, sendo as análises realizadas no Laboratório de Bioquímica Animal do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFV.

As atividades das transaminases foram determinadas utilizando *kits* (Bioclin). O método se baseia na propriedade dessas enzimas catalisarem a transferência do grupamento amino de um alfa-aminoácido para um alfa-cetoácido. Os produtos formados reagem com a dinitrofenilhidrazina formando hidrazona. A intensidade da coloração da hidrazona formada em meio alcalino é diretamente proporcional à quantidade de oxaloacetato (AST) e piruvato (ALT) formado em determinado tempo, que por sua vez é em função da atividade enzimática. A absorbância da mistura reacional foi medida a 505 nm e a intensidade da coloração formada é proporcional à quantidade de produto formado e o zero foi ajustado acertado com água destilada e deionizada. A transformação de absorvância em atividade foi feita mediante curva padrão. A quantificação de proteínas totais foi feita utilizando o método Lowry (1951) que utiliza uma mistura contendo molibdato, tungstato e ácido fosfórico (reagente Folin-Ciocalteu). Este reagente é reduzido quando reage com proteínas, na presença do cobre (II) e produz um composto com absorção máxima em 750 nm. Foi utilizada albumina sérica bovina (BSA) como padrão.

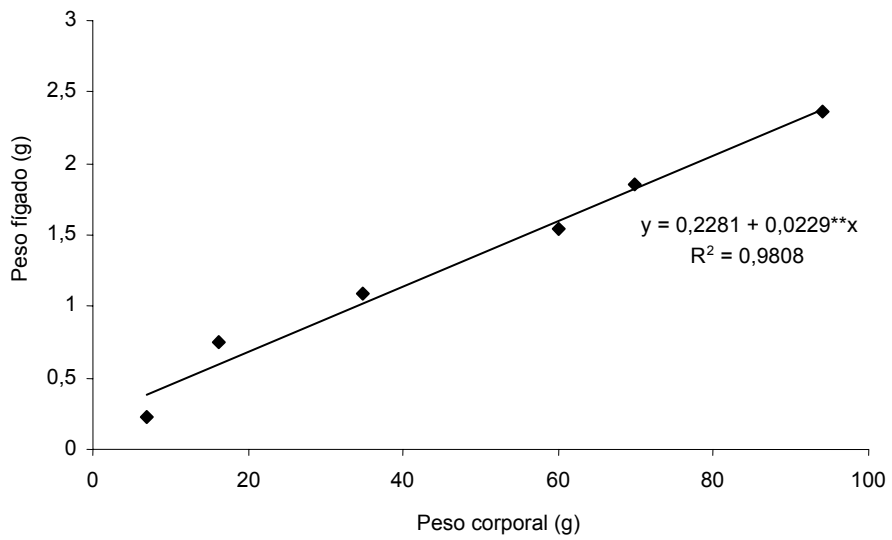
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso dos órgãos internos tem sido sempre levado em consideração quando se avalia o desempenho dos animais. Nas aves, o fígado é considerado o mais relevante, pois centraliza o metabolismo geral, conseqüentemente alterando seu peso e atividades metabólicas. O fígado apresentou crescimento linear com a idade e não aumentou na mesma proporção que o peso corporal (Figura 1a) no mesmo período de crescimento. Enquanto o peso corporal aumentou 13,71 vezes, o peso do fígado aumentou apenas 10,5 vezes no mesmo período observado.

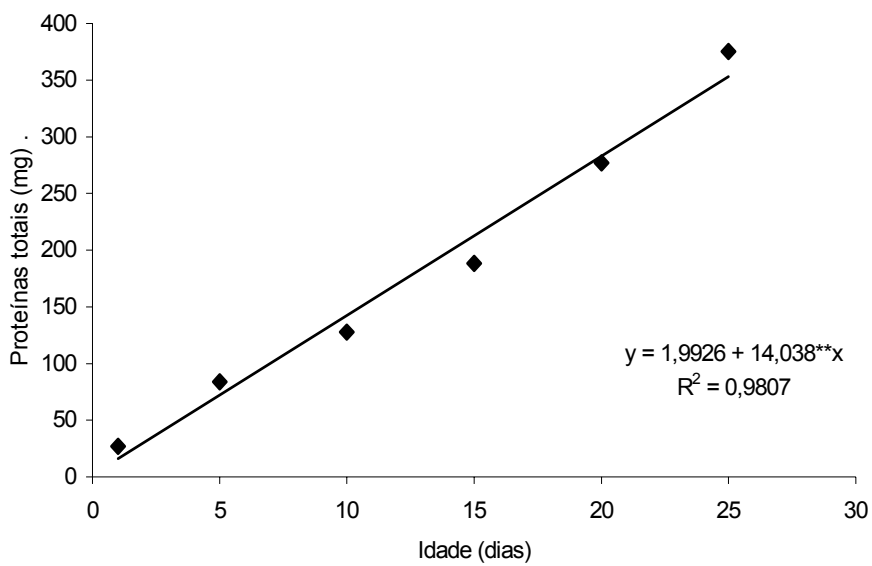
(a)



(b)



(c)



** significativo a 1% pelo teste t

Figura 1 – (a) Estimativa do peso corporal e do fígado (g) em função da idade em dias, (b) estimativa da relação entre peso corporal e fígado (g) e, (c) quantidade (mg) de proteínas totais presentes no fígado em função da idade

Matsuzawa (1981) observou o mesmo comportamento para pesos corporal e de fígado em função da idade de frangos. Contudo, rações formuladas à base de aminoácidos sintéticos podem alterar estas relações no tocante ao desenvolvimento do fígado, conforme demonstrado por Batal & Parsons (2002), que encontraram menor peso absoluto para o fígado de frangos quando compararam com dietas compostas de milho e farelo de soja com base no conteúdo de proteína total, aos 7 e 21 dias de idade. Entretanto a adição de parte dos aminoácidos na forma sintética parece não alterar o peso das vísceras e Stringhini et al. (2007) não encontraram diferenças para o peso do fígado quando alteraram as relações de lisina/arginina na dieta de frangos de corte. Da mesma forma que Oliveira Neto et al. (2007) trabalhando com diferentes níveis de metionina+cistina para frangos de corte, também não encontraram diferenças significativas para peso do fígado.

Foi observado aumento linear do fígado em relação ao peso corporal ao longo de todo o período avaliado, demonstrando crescimento adequado do órgão ao desenvolvimento do peso do animal (Figura 1b).

No entanto deve-se observar que diferentes níveis de energia metabolizável (EM) da ração podem alterar o padrão de crescimento do fígado. Xavier et al. (2008) encontraram efeito linear positivo de crescimento para o fígado quando aumentaram os níveis de EM da dieta em uma mesma idade. Este perfil é importante, pois, permite prever, através da análise do peso de fígados, a presença de substâncias tóxicas na ração provenientes de fungos como *Aspergillus* que reduzem o desenvolvimento do órgão e o desempenho dos animais (Oliveira et al., 2004).

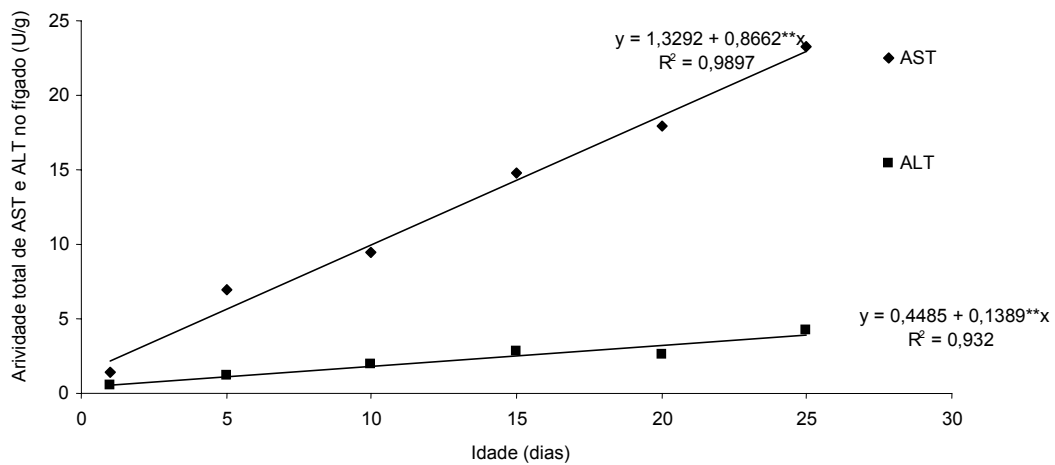
O teor de proteínas solúveis totais no fígado, utilizados para os cálculos das atividades específicas das enzimas AST e ALT, apresentou aumento linear em função da idade (Figura 1c).

O fígado, por ser um órgão central amplamente relacionado ao metabolismo de carboidrato, lipídios, proteínas e alterações em seu conteúdo protéico, pode revelar alterações de ordem metabólicas gerais. Rações com

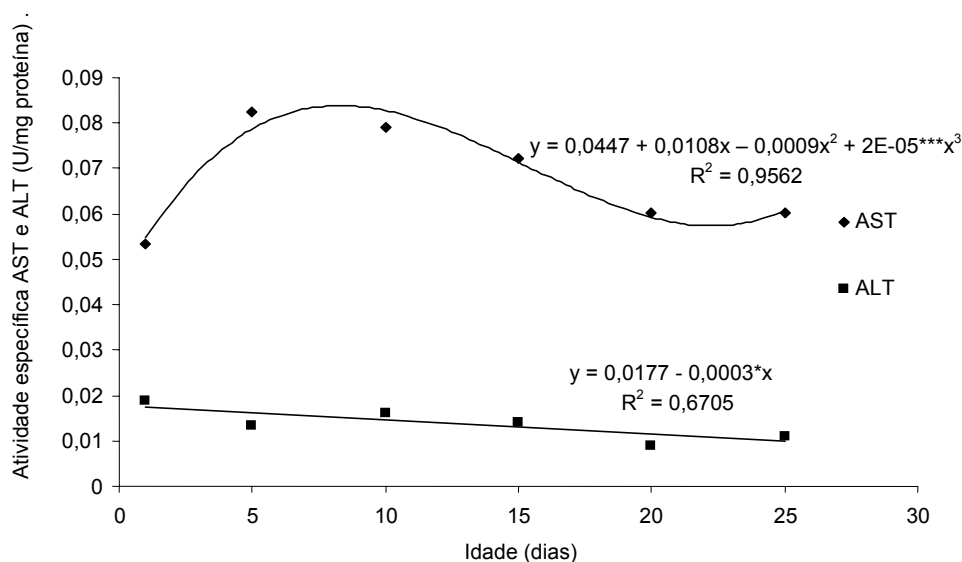
deficiência de vitamina B₆ podem comprometer a atividade da AST na formação de aspartato, que é essencial na síntese de bases pirimidínicas como doador de grupos aminos. Isto pode comprometer todo o sistema de síntese, transcrição e tradução protéica, reduzindo tanto o tamanho do órgão como seus teores de proteínas.

As atividades totais da AST e ALT apresentaram crescimento linear (P<0,05) em função da idade (Figura 2a).

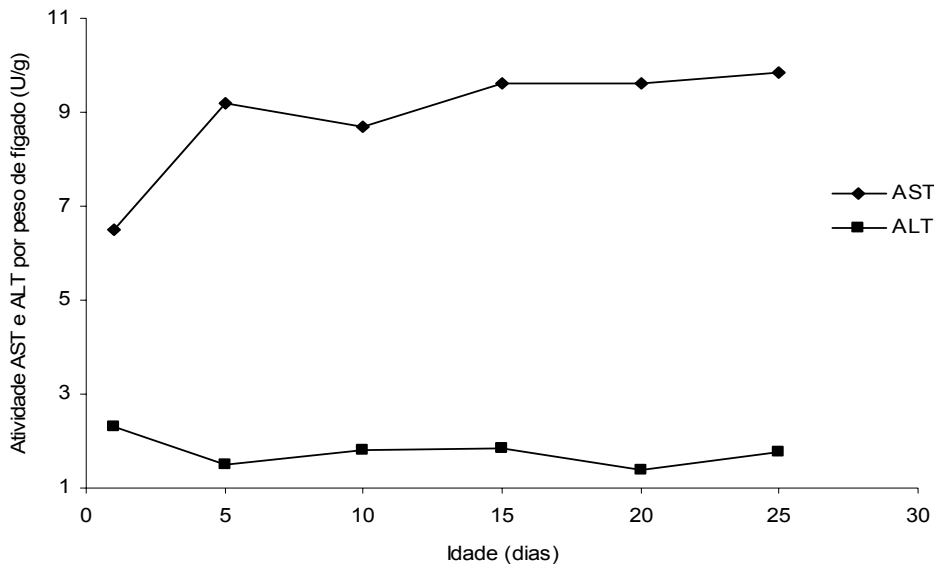
(a)



(b)

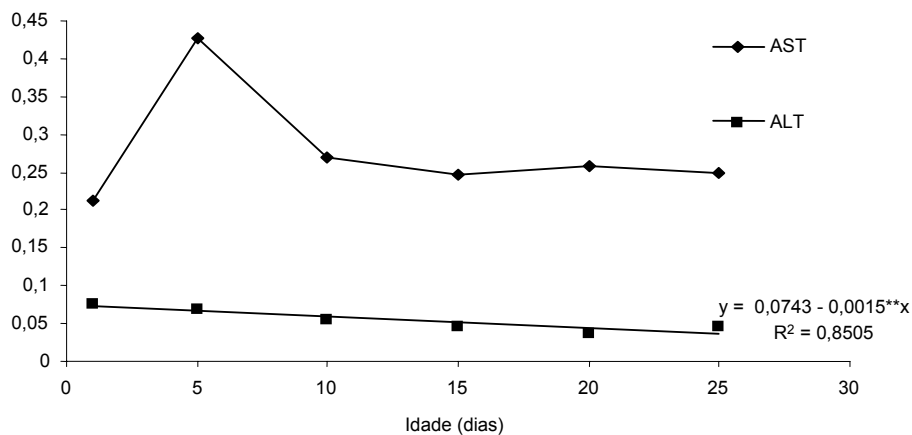


(c)



(d)

Atividade de AST e ALT por peso corporal (U/g)



* significativo a 5% pelo teste t, ** significativo a 1% pelo teste t, ***significativo a 10% pelo teste t

Figura 2 – (a) Atividade total (U) da AST e ALT no fígado, (b) atividade específica da enzima AST e ALT no fígado em U/mg proteínas, (c) atividade de AST e ALT por peso de fígado em U/g, (d) atividade da enzima AST e ALT por peso corporal em U/g

Observa-se que já no primeiro dia de vida as codornas apresentavam atividades das enzimas AST e ALT estando em conformidade com Telang & Kothari (1975) que encontraram atividade da enzima AST em embriões de frango. Apesar de ambas terem apresentado aumento linear da atividade em

função do tempo, AST demonstrou maior incremento na sua atividade hepática em relação à ALT, estabelecendo uma diferença de aproximadamente cinco vezes. Este resultado está em conformidade com Franson et al. (1985) que obtiveram a atividade da enzima AST aproximadamente quatro vezes maior que a enzima ALT, em fígados de aves silvestres. Matsuzawa (1981) também observou que a atividade da enzima sérica AST aumentou em função da idade.

Nos oito primeiros dias de vida a AST apresentou aumento da sua atividade específica (Figura 2b) provavelmente estimulada pela mudança no padrão alimentar que o pintinho recebe quando começa a receber dieta com maior quantidade de carboidratos e proteínas em relação ao conteúdo do saco vitelínico que é basicamente composta por lipídios. O aumento da atividade específica de AST é essencial para estabelecer as corretas relações dos aminoácidos para a síntese protéica no fígado devido ao seu papel central na transferência de grupos amino.

A presença de alimento no intestino delgado estimula a maturação dos enterócitos bem como a maturação do pâncreas. Com o melhor aproveitamento da energia do alimento proveniente dos lipídios, a atividade específica diminui no fígado, pois, conforme Brooks & Lampi (1995) o aumento de lipídios da dieta reduz a atividade tanto de AST como de ALT no fígado, com isto, reduzindo sua atividade específica após o oitavo dia até atingir um valor aproximadamente estável aos 25 dias de vida dos animais.

À medida que o animal sofre amadurecimento do aparelho digestório e disponibiliza melhor a energia do alimento, a ALT reduziu sua atividade em função dos níveis de energia da dieta (Amubode & Fetuga, 1984). O mesmo comportamento foi observado no presente trabalho, apesar de não terem sido avaliados níveis diferentes de energia.

Não houve modelo estatístico capaz de explicar os valores obtidos, mas pode-se observar que a atividade de AST por grama de fígado em função da idade foi bem maior que a ALT em todas as idades (Figura 2c) como observado por Franson et al. (1985) em duas espécies de patos silvestres. Observa-se também que nos cinco primeiros dias a AST teve um aumento de 41,69%, enquanto que a ALT teve uma diminuição de 65,05%, mas após esta idade

pode-se afirmar que ambas mantiveram atividades proporcionais ao crescimento do fígado.

Não houve modelo estatístico capaz de explicar os valores obtidos para a atividade da enzima AST hepática em relação ao peso corporal em função da idade (Figura 2d).

Nos primeiros dias de vida as aves passam por um processo de adaptação alimentar devido à dieta rica em proteínas e carboidratos, sendo possível que estes nutrientes tenham influenciado no maior aumento da atividade desta enzima aos cinco dias de idade. A partir dos dez dias de idade os valores se mantiveram em uma mesma faixa de atividade. A atividade da ALT por grama de peso corporal apresentou um decréscimo linear em função da idade. Devido aos baixos valores de atividade de ALT no fígado torna-se difícil uma associação com variações no peso vivo como forma de predição de alterações no desempenho animal, conforme descrito por Cornelius (1963).

4. CONCLUSÕES

O perfil da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase no fígado de codornas japonesas de um a 25 dias de idade indicaram que a ALT demonstrou maior uniformidade de comportamento em relação aos parâmetros comparados e, portanto, pode ser de maior relevância para futuras análises de outras composições dietéticas.

Os dados da biometria obtidos nas condições adotadas em rações compostas principalmente por milho e farelo de soja permitem concluir que o fígado foi capaz de satisfazer as demandas metabólicas do animal.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMUBODE, F.O.; FETUGA, B.L. The influence of dietary methionine, protein, and energy levels on glutamic-oxalacetate and glutamic-pyruvate transaminase of chicken. **Beiträge zur Tropischen Landwirtschaft und Veterinärmedizin**, v.22, n.1, p.193-200, 1984.
- BALOGUN, O.O.; FETUGA, B.L. Liver glutamate-oxalate transaminase and glutamate-pyruvate transaminase activity in pigs as influenced by dietary methionine and lysine levels. **Biochemistry and Experimental Biology**, v.16, n.1, p.42-50, 1980.
- BATAL, A.B.; PARSONS, C.M. Effects of age on development of digestive organs and performance of chicks fed a corn-soybean meal versus a crystalline amino acid diet. **Poultry Science**, v.81, p.1338-1341, 2002.
- BROOKS, S. P. J.; LAMPI, B. L. The effect of changing dietary fat and carbohydrate on the enzymes of amino acid metabolism. **Nutritional Biochemistry**. v.6, p.414-421, 1995.
- COLES, E.H. **Liver Function. Veterinary Clinical Pathology**. 2ª edição, Philadelphia: Saunders, 1974. 165p.
- CORNELIUS, C.E. relation of body-weight to hepatic glutamic pyruvic transaminase activity. **Nature**, V.200, P. 580-581, 1963.
- FRANSON, J. C.; MURRAY, H. C.; BUNCK, C. ENzyme activities in plasma, kidney, liver, and muscle of five avian species. **Journal of Wildlife Diseases**. v.21, n.1, p.33-39, 1985.
- GUIMARÃES, V. M.; MORAES, G. H. K.; FONSECA, J. B.; ROSTAGNO, H. S. Efeitos de aminoácidos não essenciais da dieta sobre glutamato-oxaloacetato transaminase hepática e composição química parcial de tíbias e fêmures de pintos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.25, n.3, p.481-493, 1996.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDAL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**. v.193, p.265-275, 1951.
- MATSUZAWA, T. Changes in blood components and organ weights in growing White Leghorn chicks. **Growth**, v.45, n.3, p.188-197, 1981.
- National Research Council - NRC. **Nutrient requirements of poultry**. 9.ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1994, 155p
- OLIVEIRA NETO, A.R.; OLIVEIRA, R.F.M.; DONZELE, J.L.; BARRETO, S.L.T.; VAZ, R.G.M.V.; GASPARINO, E. Níveis de metionina + cistina total para frangos de corte de 22 a 42 dias de idade mantidos em ambiente termoneutro.

Revista Brasileira de Zootecnia, v.36, n.5, p.1359-1364, 2007.

OLIVEIRA, C.A.F.; BUTKERAITIS, P.; ROSMANINHO, J.F.; GUERRA, J.L.; CORREA, B.; REIS, T.A. Alterações hepáticas em codornas japonesas submetidas à intoxicação prolongada por aflatoxina B₁. **Ciência Rural**, v.34, n.1, p.213-217, 2004.

STRINGHINI, J.H.; CRUZ, C.P.da; THON, M.S.; ANDRADE, M.A.; LEANDRO, N.S.M.; CAFÉ, M.B. Níveis de arginina e lisina digestíveis na dieta de frangos de corte na fase pré-inicial. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.4, p.1083-1089, 2007.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Fisiologia dos animais domésticos**. 11^a Edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, 856P.

TELANG, N. T.; KOTHARI, R. M. Aspartate aminotransferase activity during early development of chicken embryo. **Differentiation**, v.4, p.61-64, 1975.

TOROPILA, M.; NOVÁKOVÁ, J.; DANOVÁ, D.; PALUCHOVÁ, K.; KAFKA, I.; LAKTICOVÁ, K. Changes in the activity of selected adaptative enzymes in laboratory rats in relation to sex during prolonged fasting. **Folia veterinaria**, v.49, n.3, p.48-50, 2005.

TRUCHLINSKI, J.; GRELA, E. Alanine and aspartate transaminase and acid and alkaline phosphatase activities in the blood serum in relation to the protein and energy levels in the pig's feeds. **Polskie Archiwum Weterynaryjne**, v.27, n.2, p.129-136, 1987.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. **SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas**. Versão 8.0. Viçosa - MG, 2000.

XAVIER, S.A.G.; STRINGHINI, J.H.; BRITO, A.B.; ANDRADE, M.A.; LEANDRO, N.S.M.; CAFÉ, M.B. Níveis de energia metabolizável em rações pré-iniciais para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.37, n.1, p.109-115, 2008.

CAPÍTULO II

Atividade de amilase e lipase no pâncreas e quimo de codornas em postura contendo diferentes relações de treonina com lisina

1. INTRODUÇÃO

O avanço genético no processo de seleção para aumento da produção de ovos nas aves de criação industrial tem causado uma demanda cada vez maior do sistema metabólico animal em relação aos processos digestivos e absorptivos dos nutrientes. A galinha ingere em média 7% do seu peso vivo em ração e a codorna em torno de 14% (Silva et al., 2006). O peso do ovo da codorna fica em torno de 11 a 13 gramas correspondendo 10% do seu peso vivo, sendo que para a galinha, o ovo representa aproximadamente 5% de seu peso vivo em algumas raças. Outro fator que torna as codornas mais exigentes em termos dietéticos é que possuem um tempo de passagem bem mais reduzido que as galinhas. Nas codornas, este tempo varia de 80 a 90 minutos, dependendo da composição da dieta, enquanto que em frangos, este tempo é de aproximadamente três horas (Furlan et al., 2001).

As atividades das enzimas digestivas podem variar em função de diversos fatores relacionados à composição da ração, adição de substâncias exógenas e características dos animais, sendo: adição de enzimas (Cowieson & Adeolat, 2005; Lima et al., 2003; Al-Marzooqi & Leason, 2000), idade das matrizes (Maiorka et al., 2004), idade do animal (Krogdahl & Sell, 1989; Sell et al., 1991) tipo de acondicionamento do animal (gaiola ou piso) (Deaton et al., 1985), forma de apresentação da ração (farelada ou pelitizada) (Choi et al., 1986), espécie animal (Applegate et al., 2005) e linhagem (crescimento rápido ou lento, postura) (O'Sullivan et al., 1992; Nitsan et al., 1991; Dunnington & Siegel, 1995). Porém, um fator relevante que afeta a produção de ovos em codornas é a quantidade de proteína da dieta. Além de ser o ingrediente que mais onera a ração, as codornas são mais exigentes deste ingrediente na dieta.

Tradicionalmente, os níveis de proteína bruta (PB) e o nível de aminoácidos essenciais são os critérios para o cálculo do preço mínimo na formulação de rações para monogástricos (Djouvinov & Mihailov, 2005). Também, dietas com altos níveis protéicos têm um alto custo metabólico, porque o excesso de aminoácidos precisam ser catabolizados. Portanto, a redução do nível protéico com a suplementação dos aminoácidos limitantes tem sido uma prática comum na produção animal, sendo denominado como

modelo de proteína ideal (Djouvinov & Mihailov, 2005). Contudo, quando se reduz muito os níveis de proteína proveniente dos ingredientes básicos da ração a base de milho e soja, torna-se necessária a complementação de outros aminoácidos além dos três primeiros limitantes: sulfurados (metionina + cistina), lisina e treonina, o que pode ser economicamente inviável (Kidd et al., 2001).

A redução do nível de proteína e o balanço de aminoácidos não só reduz o custo da ração como também previne problemas provocados pelo excesso de um dos aminoácidos, que pode produzir efeitos indesejáveis para o desempenho e até comprometer a saúde dos animais. O excesso de lisina além de produzir uma deficiência de arginina através da competição pelo transporte intestinal, produz efeitos tóxicos no sistema nervoso central. O excesso de aminoácidos sulfurados também produz efeitos tóxicos para as aves (Silva et al., 2006). Porém quando qualquer um dos aminoácidos está em excesso afeta diretamente a necessidade da treonina, pois, esta é o terceiro aminoácido limitante, e é também precursor de glicina, que por sua vez é precursor de ácido úrico, que é a forma que as aves excretam o excesso de amônia corporal (Kidd et al., 2001). Portanto, 25% de glicina do organismo é consumida na produção de ácido úrico.

A treonina também é muito importante para a produção de mucinas no intestino. Cerca de 50% da treonina da dieta é destinada a produção de mucinas pelos enterócitos. Considerando que o intestino está posicionado como a primeira linha de defesa do organismo, um comprometimento da produção de mucinas proveniente de uma deficiência de treonina pode afetar os processos absorptivos e funcionalmente a barreira protetora comprometendo a saúde animal (Law et al., 2007).

Outro ponto também a ser considerado é que a redução dos níveis protéicos da dieta pode afetar as atividades das enzimas α -amilase, lipase, dissacaridases e proteases (Zhao et al., 2007). Kamisoyama et al. (2009) afirmaram que os níveis da proteína na ração interferem na digestibilidade de carboidratos, lipídios e proteínas, através do estímulo que a proteína exerce sobre a secreção de colecistoquinina (CCK) e conseqüente secreção das enzimas digestivas. Todavia, não só os níveis de proteína da ração interferem na secreção das enzimas digestivas. Yang et al. (1989a) demonstraram que a

administração endovenosa de CCK associada a aminoácidos interferiu na secreção das enzimas digestivas pancreáticas. A combinação de fenilalanina + treonina foi mais efetiva em estimular a secreção das enzimas do que a associação de treonina + isoleucina ou fenilalanina + isoleucina, sugerindo que a treonina e fenilalanina podem ter um papel regulatório específico na secreção das enzimas digestivas de frangos quando administrados simultaneamente.

Contudo, Yang et al. (1989b) demonstraram que mesmo isoladamente, vários aminoácidos em conjunto com CCK aumentaram a secreção de enzimas digestivas em diferentes graus, dependendo do tipo de aminoácido, sendo valina e arginina os mais efetivos. Entretanto, Mandal et al. (2006) também observou que a amilase é uma proteína que possui grande quantidade de treonina correspondendo a 110 mg.g^{-1} de proteína enzimática, e que a treonina estava envolvida na secreção de amilase pelo pâncreas. Com base no exposto, objetivou-se com este trabalho, avaliar diferentes relações de treonina digestível com lisina digestível na dieta sobre as atividades das enzimas digestivas α -amilase e lipase no pâncreas e no quimo de codornas em postura em diferentes idades.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa – MG, com duração de 63 dias. Foram utilizadas 60 codornas japonesas fêmeas (*Coturnix coturnix japonica*) com 52 dias de idade, peso médio de 153,5g. Inicialmente, as aves com 36 dias de idade foram alojadas nas gaiolas de acordo com o peso corporal e uniformizadas (peso médio de 109g). Posteriormente, ao início da postura, as codornas foram uniformizadas pela taxa de postura para que as unidades experimentais iniciassem o experimento nas mesmas condições. As aves foram alojadas em gaiolas de arame galvanizado com dimensões de 100x23x20 cm (comprimento x largura x altura), montadas em esquema de escada. Cada gaiola foi subdividida em 4 repartições de 25 cm, sendo alojadas 5 aves em cada repartição. O comedouro e o bebedouro utilizados foram do tipo calha, em chapa metálica galvanizada, sendo o comedouro na parte frontal

e o bebedouro na parte anterior da gaiola. O piso de cimento abaixo das gaiolas foi coberto com maravalha associado a cal, para absorver o excesso de umidade das excretas.

As dietas foram formuladas a base de farelos de milho, de soja e farelo de glúten de milho, sendo utilizadas as recomendações preconizadas pelo NRC (1994) para atender às exigências nutricionais das codornas, exceto para as exigências de metionina + cistina digestíveis e de cálcio, que foram baseadas nas recomendações de Pinto et al. (2003) e Pereira (2004), respectivamente. Ainda, foram acrescentados 4% nas exigências de cada aminoácido para assegurar que não ocorressem deficiências. A composição química e nutricional dos ingredientes utilizados para a formulação da dieta foram segundo Rostagno et al. (2000).

A dieta basal foi suplementada com três níveis de L-Treonina 98% (0,018; 0,128 e 0,239%) em substituição ao ácido glutâmico, em equivalente protéico, correspondendo à relação treonina digestível:lisina digestível de 0,65; 0,75 e 0,85, mantendo-se as dietas isoprotéicas, isocalóricas e isonitrogênicas. As diferenças entre os equivalentes protéicos de treonina e ácido glutâmico, nos diferentes níveis de treonina, foram compensados pelo amido (Tabela 1).

Tabela 1 – Composições das dietas experimentais na matéria natural

Ingredientes (%)	Relação treonina digestível : lisina digestível		
	0,65	0,75	0,85
Milho	55,969	55,969	55,969
Farelo de soja (45%)	29,285	29,285	29,285
Farelo de glúten (60%)	1,071	1,071	1,071
Óleo vegetal	2,871	2,871	2,871
Fosfato bicálcico	1,611	1,611	1,611
Calcário	7,004	7,004	7,004
L-Arginina (99%)	0,165	0,165	0,165
L-Lisina.HCL (79%)	0,140	0,140	0,140
DL-Metionina (99%)	0,313	0,313	0,313
L-Treonina (98%)	0,018	0,128	0,239
L-Triptofano (98%)	0,027	0,027	0,027
L-Isoleucina	0,214	0,214	0,214
L-Valina	0,181	0,181	0,181
L-Glutâmico	0,599	0,458	0,304
Amido	0,250	0,281	0,324
Cloreto de colina (60%)	0,100	0,100	0,100
Surmax ¹	0,010	0,010	0,010
BHT ²	0,010	0,010	0,010
Mistura mineral ³	0,050	0,050	0,050
Mistura vitamínica ⁴	0,100	0,100	0,100
Sal	0,285	0,285	0,285
Total	100,00	100,00	100,00
Composição Calculada:			
Proteína bruta (%)	20,000	20,000	20,000
Energia metabolizável (kcal/kg)	2910	2910	2910
Arginina digestível (%)	1,300	1,300	1,300
Lisina digestível (%)	1,000	1,000	1,000
Metionina digestível (%)	0,586	0,586	0,586
Metionina+cistina digestível (%)	0,840	0,840	0,840
Treonina total (%)	0,745	0,853	0,962
Treonina digestível (%)	0,650	0,750	0,850
Triptofano digestível (%)	0,230	0,230	0,230
Isoleucina digestível (%)	0,940	0,940	0,940
Valina digestível (%)	0,960	0,960	0,960
Cálcio (%)	3,200	3,200	3,200
Fósforo disponível (%)	0,400	0,400	0,400
Sódio (%)	0,150	0,150	0,150

¹ Avilamicina

² Butil-hidróxi-tolueno (antioxidante)

³ Composição/kg de produto: vit. A:12.000.000UI, pantotênico: 12.000mg, biotina: 200mg, vit. K: 3.000mg, veículo q.s.p.: 1.000g

⁴ Composição /kg de produto: manganês: 160g, zinco: 100g, cobre: 20g, cobalto: 2g, iodo: 2g, excipiente q.s.p.: 1000g

A dieta e a água foram fornecidas à vontade durante todo período experimental. As temperaturas e a umidade relativa (UR) das salas foram monitoradas durante o dia, às 8 e às 16 horas, por meio de termômetros de máxima e mínima e de bulbo seco e úmido, posicionados entre as fileiras de gaiolas, à altura das aves. Aos 40 dias de idade das aves, teve início o

programa de iluminação com fornecimento inicial de 14 horas de luz diárias, e com aumentos semanais de 30 minutos de luz até atingir 17 horas de luz por dia, permanecendo o mesmo até o término do período experimental. Este fornecimento de luz foi controlado por um relógio automático (*timer*), conforme o procedimento adotado em granjas comerciais.

Foi realizado um experimento em esquema de parcelas subdivididas, onde as relações treonina:lisina (0,65, 0,75 e 0,85) foram casualizadas às parcelas no delineamento em blocos casualizados com 4 repetições, sendo o período avaliado na subparcela.

Foi utilizada análise de variância e de regressão com o objetivo de estimar a melhor equação que modela os efeitos dos dois fatores sobre as características estudadas, cujos coeficientes foram tratados pelo teste t a 5% de probabilidade. As análises das variáveis foram feitas utilizando o programa SAEG – Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas – UFV (2000).

Ao término de cada período experimental, foi selecionada ao acaso uma ave de cada repetição e sacrificada por deslocamento cervical. Foram removidos a moela, o pâncreas e o conteúdo da porção proximal do intestino delgado (quimo) de cada ave com auxílio de uma luminária com lente e braço móvel. As amostras foram imediatamente pesadas e congeladas em nitrogênio líquido, identificadas e armazenadas a -20 °C para posteriores análises.

O pâncreas e o quimo foram descongelados dentro da geladeira em banho de gelo. Em seguida, aproximadamente 50 mg do pâncreas e a amostra total de quimo, foi adicionado a 10 mL de água destilada deionizada gelada e homogeneizado com agitador Potter-Ev, modelo TE-099, Tecnal. As amostras foram então centrifugadas a 7500 x g por 10 minutos e o sobrenadante utilizado para as determinações das atividades das enzimas digestivas α -amilase e lipase.

A atividade de α -amilase foi determinada por espectrofotometria através da utilização de kit produzido pela In Vitro Diagnóstica com metodologia de Caraway (1959) modificada que consiste em incubar a amostra com substrato de amido. O iodo reage com o amido ainda não hidrolisado produzindo uma coloração azul que é inversamente proporcional a atividade enzimática, sendo comparado com um controle. A leitura foi realizada por espectrofotometria a 660 nm. Os valores foram expressos em Unidades (U), sendo uma unidade

igual à quantidade de enzima que hidrolisa totalmente 10 mg de amido em 30 minutos a 37 °C.

A atividade de lipase foi determinada empregando-se o método de espectrofotometria, com a utilização de kit produzido pela In Vitro Diagnóstica.

A lipase hidrolisa os triacilgliceróis liberando ácidos graxos e monoacilgliceróis que reagem com o ácido 5,5-ditio-bis-2-nitrobenzóico em meio tamponado, formando um ânion de coloração amarela, cuja intensidade de cor é proporcional à atividade da enzima. As amostras foram lidas espectrofotometricamente em 412 nm. Os valores foram expressos em Unidades Internacionais (UI).

Para determinar o teor de proteína solúvel total no pâncreas e no quimo foi utilizado o método Lowry (1951). Esse método baseia-se numa mistura contendo molibdato, tungstato e ácido fosfórico (reagente Folin – Ciocalteau), que é reduzido quando reage com proteínas, na presença do cobre (II), e produz um composto que apresenta absorção máxima em 700 nm. Durante a reação ocorre uma redução das cadeias laterais de alguns aminoácidos (tirosina, triptofano, cisteína, asparagina e histidina), que contribuem com quatro elétrons, ou através de dois elétrons de cada unidade tetrapeptídica dos peptídeos e proteínas, que é facilitada pela formação do quelato entre o cobre (II) e peptídeos/proteínas. A curva padrão foi determinada utilizando-se albumina sérica bovina (BSA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os pesos corporais das aves apresentaram efeito linear com o tratamento, tendo a relação de 0,65 de treonina:lisina digestíveis apresentado maior peso (Figura 1). Para o período, o peso corporal apresentou modelo quadrático com melhor desempenho aos 73 dias de idade ($Y = -101,026 - 24,5833T + 7,8074P - 0,0518P^2$). Diferentemente do presente trabalho, geralmente o aumento da quantidade de treonina na ração melhora o desempenho animal (Kidd et al., 2001). Já para o período, a redução de ganho de peso é esperada, visto que os animais no início do experimento eram jovens e no início de postura, portanto, quando atingiram uma fase mais madura no

terceiro período, o peso dos animais já estava ajustado ao peso do animal adulto.

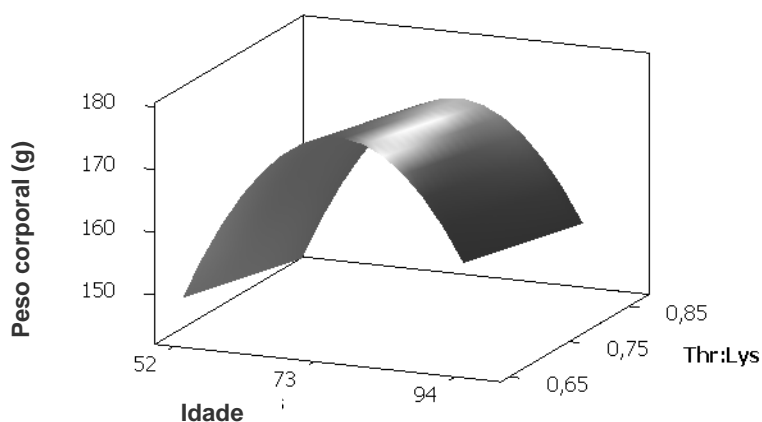


Figura 1 – Estimativa do peso corporal (g) em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

A moela ($Y=11,2144-30,8116T+20,5954T^2+0,0961P-0,0007P^2$) e o coração ($Y=8,7950-22,3143T+14,5017T^2+0,0296P-0,0002P^2$) apresentaram modelo quadrático para tratamento e período, sendo que para o tratamento, na relação de 0,75 treonina/lisina digestíveis apresentaram menor peso e para o período, aos 73 dias tiveram maior peso (Figuras 2 e 3, respectivamente).

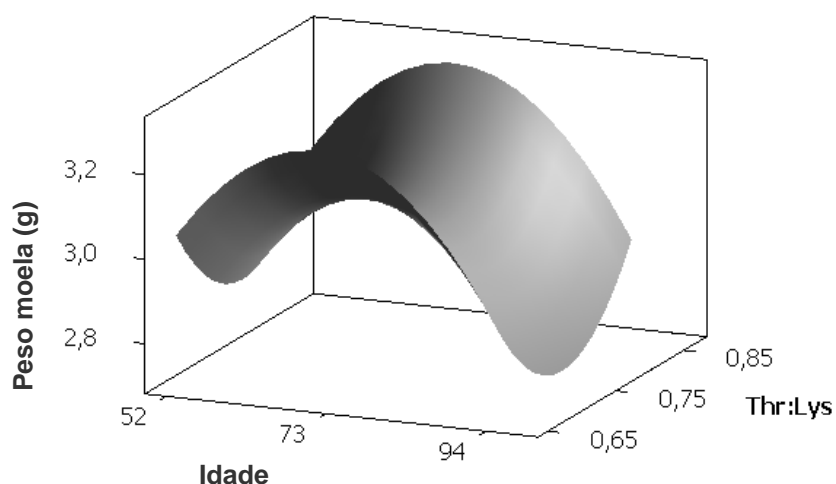


Figura 2 – Estimativa do peso da moela (g) em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

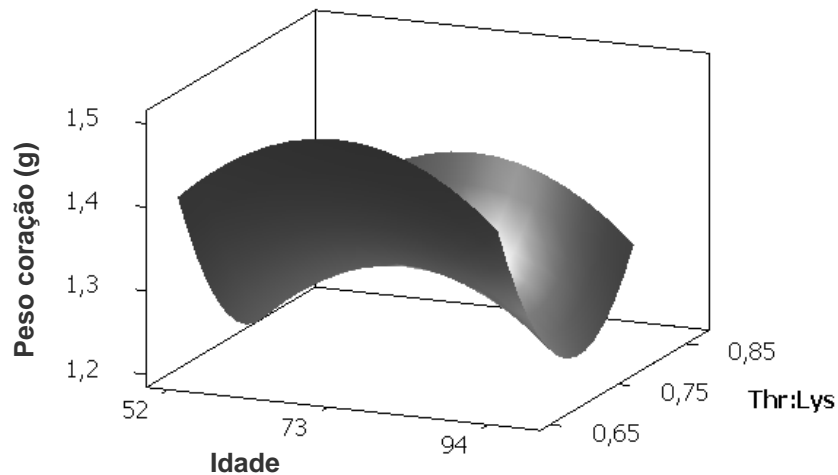


Figura 3 – Estimativa do peso do coração (g) em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

O peso do pâncreas apresentou comportamento quadrático ($Y = -0,6134 + 0,0361P - 0,0002P^2$) em função da idade das aves, obtendo, estas, maior peso do órgão aos 73 dias de idade (Figura 4). No entanto, o peso do pâncreas não foi influenciado ($P > 0,05$) pelas relações treonina/lisina utilizadas na dieta.

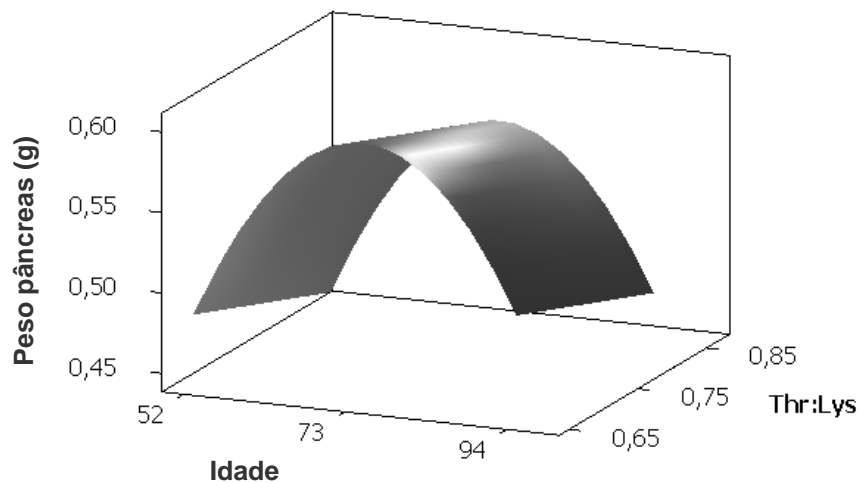


Figura 4 – Estimativa do peso do pâncreas (g) em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

O peso do quimo apresentou aumento linear em função das relações treonina:lisina na dieta e da idade das aves ($Y = -4,1255 + 3,9712T + 0,0277P$) (Figura 5).

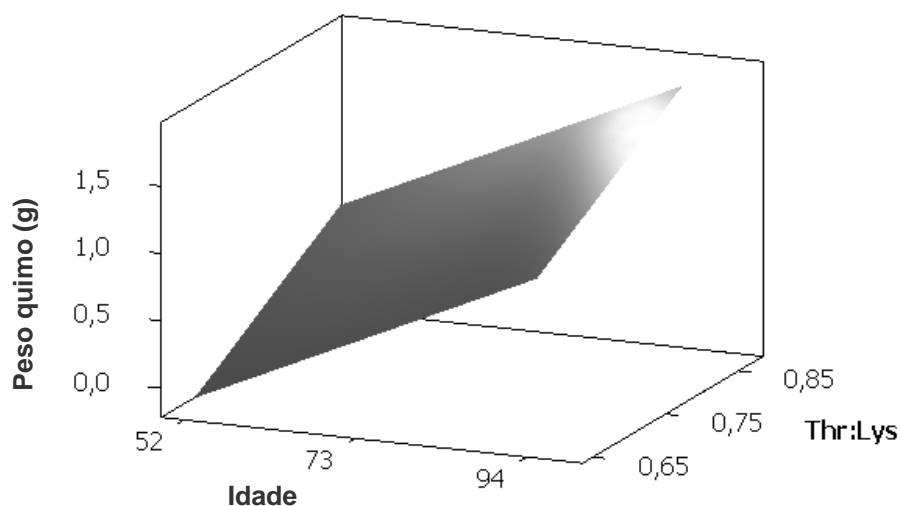


Figura 5 – Estimativa do peso do quimo (g) em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Entretanto, quando foram feitas as relações com o peso das aves, o pâncreas que havia, sofrido influência do período, não foi significativo. Quando se faz a comparação com o peso corporal, pode-se ter uma idéia mais precisa com relação ao desenvolvimento do órgão, pois quanto maior o animal, maior será sua demanda metabólica em termos de produção de enzimas. Portanto, nem a relação treonina:lisina, nem a idade das aves, quando relacionados ao peso corporal, foram capazes de modificar o padrão de desenvolvimento do órgão. Da mesma forma, a moela e o coração que haviam sofrido influência do tratamento e do período, quando foram comparados ao peso vivo, não demonstraram diferenças significativas, podendo, este fato, demonstrar que o peso dos órgãos está mais relacionado ao peso do animal do que diretamente com a relação treonina:lisina ou com a idade das aves.

Órgãos como coração, pulmão e pâncreas são considerados órgãos de suprimento e geralmente possuem crescimento alométrico em relação ao peso vivo na primeira semana de vida tanto em aves de crescimento rápido como em crescimento lento (Lilja, 1983). Após isto, estes órgãos possuem crescimento proporcional ao aumento do peso corporal. Em conformidade com o presente trabalho, Dunnington & Siege (1995) encontraram que, em dois tratamentos diferentes, e dentre duas idades, 15 e 45 dias, não afetaram o

peso relativo do pulmão, fígado e pâncreas. Isto porque nas idades estudadas, a fase de crescimento alométrico já havia sido superada (Sell et al., 1991). Krogdahl & Sell (1989) quando testaram o efeito da composição da dieta dentro da idade, observaram aumento alométrico do peso relativo do pâncreas nas duas primeiras semanas de idade, porém, não observaram efeito significativo da dieta sobre o peso relativo do órgão.

O peso do conteúdo intestinal aumenta com a idade e varia de acordo com o seguimento. A dieta também pode alterar o volume e conseqüentemente o peso do conteúdo intestinal. Dunnington & Siegel (1995) encontraram pesos maiores para os segmentos intestinais, que incluíram a moela e intestino delgado, em frangos alimentados com dieta com maior teor de fibras e proteínas e, também, um maior peso para o conteúdo intestinal. No presente trabalho, as dietas foram constituídas basicamente com as mesmas proporções dos macronutrientes, sendo apenas diferentes na quantidade de treonina, e quando comparado em relação ao peso vivo, a dieta não foi capaz de influenciar o peso das vísceras.

A porcentagem de proteína do pâncreas apresentou comportamento linear ($Y = -8,2591 + 9,4892T + 0,5832P - 0,0044P^2$) de acordo com o aumento da relação treonina:lisina na dieta. Para a idade, a porcentagem de proteína apresentou efeito quadrático com maior valor no segundo período aos 73 dias (Figura 6).

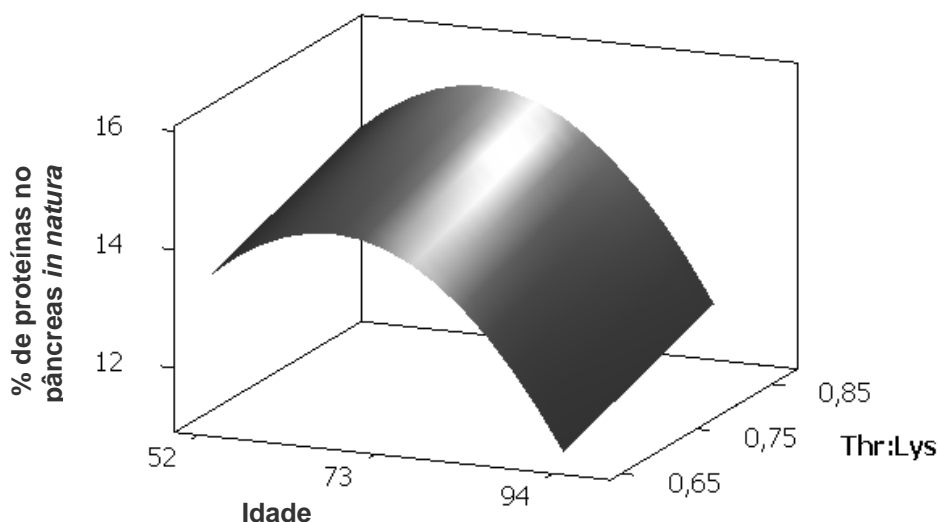


Figura 6 – Estimativa da porcentagem de proteína do pâncreas em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Mesmo, observando que no terceiro período a porcentagem de proteína do pâncreas reduziu, de acordo com a equação, observamos que o aumento dos níveis de treonina influenciou positivamente o conteúdo de proteína do pâncreas. Considerando que o pâncreas é um órgão essencialmente secretor de enzimas digestivas, o aumento da concentração de proteína pode estar relacionado ao aumento da síntese destas enzimas. Cabe ressaltar que a amilase é constituída de aproximadamente 110mg de treonina/grama de proteína. Suryawan et al. (2009) testaram a dose da insulina e de aminoácidos em suínos e demonstraram que a síntese protéica foi influenciada de forma tecido dependente, sendo que no pâncreas, houve um aumento da síntese protéica de forma dose dependente de aminoácidos em conformidade com o presente trabalho.

A atividade total da amilase por pâncreas *in natura* (Figura 7) e a atividade por miligrama de pâncreas (Figura 8) apresentaram efeito linear decrescente com o aumento das relações treonina:lisina, e modelo quadrático para o período com maior atividade aos 73 dias de idade ($Y=-7878,06-6841,54T+604,9207-4,5339P^2$ e $Y=-0,4420-12,4012T+0,7426P-0,0059P^2$, respectivamente).

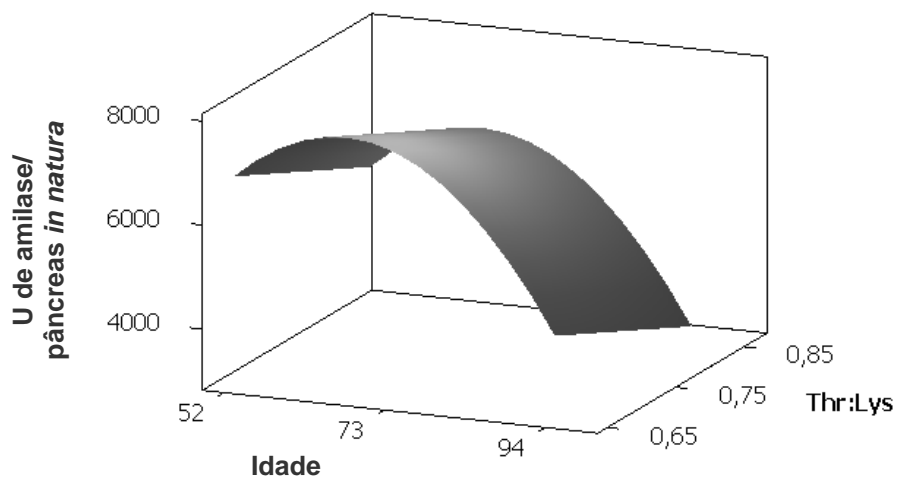


Figura 7 – Relação da atividade total da amilase por pâncreas *in natura* em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

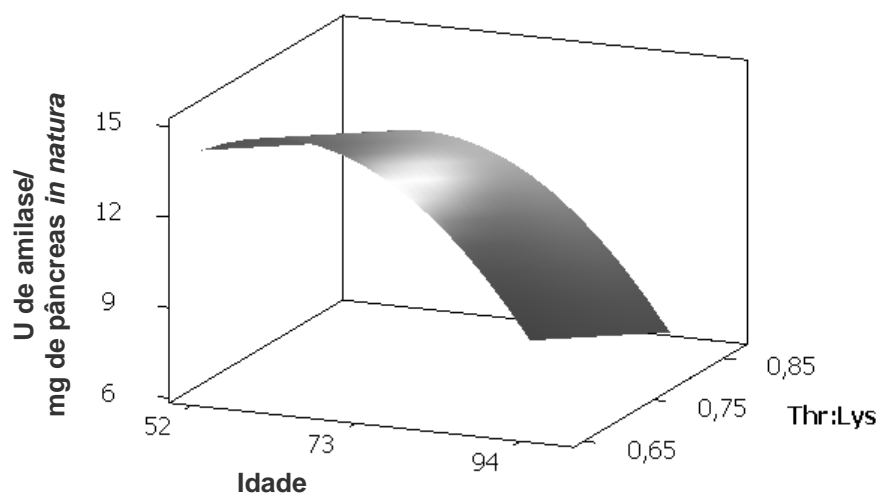


Figura 8 – Relação da atividade amilase por miligrama de pâncreas *in natura* em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

A atividade específica da amilase, que expressa a atividade por miligrama de proteína, apresentou efeito quadrático ($Y=464,657-808,115T+449,640T^2-0,4243P$) como o melhor modelo que explicasse o comportamento da atividade para a relação treonina:lisina, com maior atividade para relação de 0,65 Thr:Lys digestíveis (Figura 9). Para a idade, o modelo linear foi o mais adequado, mostrando-se decrescente com o aumento da idade.

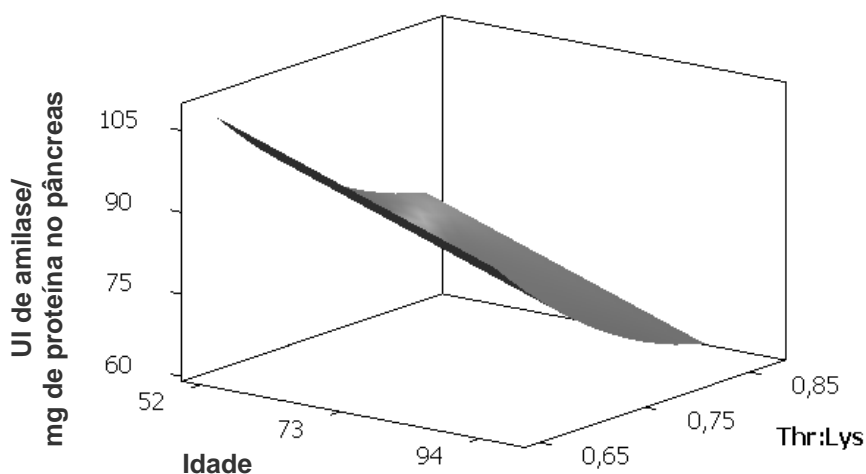


Figura 9 – Relação da atividade específica da amilase em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

A diminuição da atividade total da amilase por pâncreas *in natura* e a atividade por miligrama de pâncreas ao longo dos períodos pode estar relacionado às mudanças metabólicas que o animal sofre com o amadurecimento das funções digestivas e nas demandas metabólicas provenientes da produção de ovos. Porém, a redução da atividade específica da amilase a partir da relação de 0,65 de treonina:lisina demonstra que níveis acima deste valor podem comprometer a produção desta enzima pelo pâncreas. No entanto, doses maiores devem ser testadas para conclusões mais precisas. Também deve ser levado em consideração o comportamento da atividade desta enzima no quimo. Pois, no pâncreas avaliando-se a atividade enzimática temos uma constatação do conteúdo da reserva enzimática, visto que, as mesmas não apresentam atividade neste órgão.

A atividade da amilase no pâncreas por grama de peso corporal apresentou resposta em efeito linear decrescente de acordo com a relação treonina:lisina e quadrático para a idade ($Y=3,8832-8,4012T+0,4111P-0,0033P^2$), sinalizando redução da secreção da enzima em relação ao aumento crescente da relação treonina:lisina na ração (Figura 10).

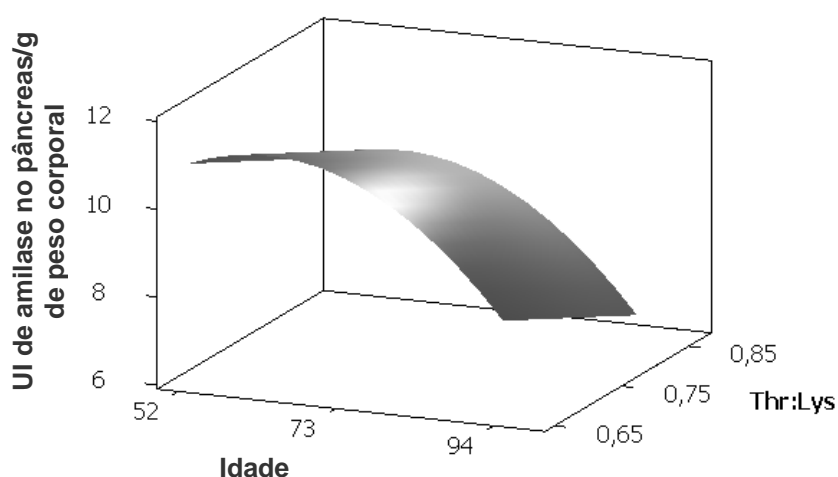


Figura 10 – Relação da atividade da amilase no pâncreas por grama de peso corporal em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Como o aumento da relação de treonina influenciou de forma negativa o peso do animal, isto demonstra que o efeito da relação treonina:lisina sobre a atividade total da enzima foi ainda maior. Fato este confirmado quando

observamos que o aumento da treonina reduziu a atividade enzimática total de amilase no pâncreas e por miligrama de pâncreas dentro do mesmo modelo de comportamento linear decrescente. Para a idade, observou-se efeito quadrático com menor atividade da amilase por grama de peso vivo aos 73 dias de idade. Portanto, acima de 73 dias houve uma redução da atividade da enzima. Contudo, este fato isoladamente não caracteriza uma deficiência digestiva.

A atividade total da amilase no conteúdo total do quimo em função da idade das aves apresentou modelo linear crescente ($Y=-14529,5+39948,4T-26681,3T^2+0,2867P$). Para o tratamento a atividade da amilase no conteúdo total do quimo obteve efeito quadrático com maior atividade para a relação de 0,75 Thr:Lys digestíveis.

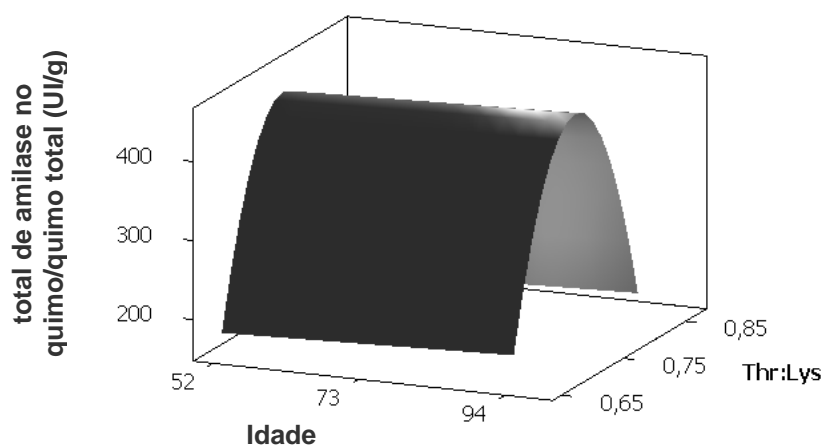


Figura 11 – Relação da atividade total da amilase por quimo total em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

A atividade da amilase por miligrama de quimo (Figura 12) e a atividade específica da amilase do quimo (Figura 13) apresentaram comportamento quadrático para a relação treonina:lisina e linear decrescente com o avanço da idade das aves ($Y=-25,3427+71,7645T-48,3452T^2-0,0073P$ e $Y=-386,157+1088,10T-724,732T^2-0,1407P$, respectivamente).

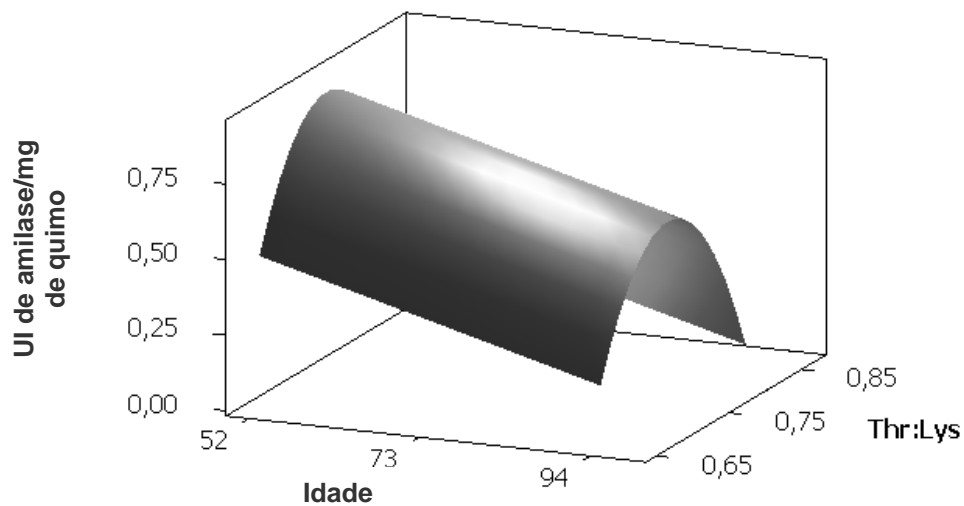


Figura 12 – Relação da atividade da amilase por miligrama de quimo em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

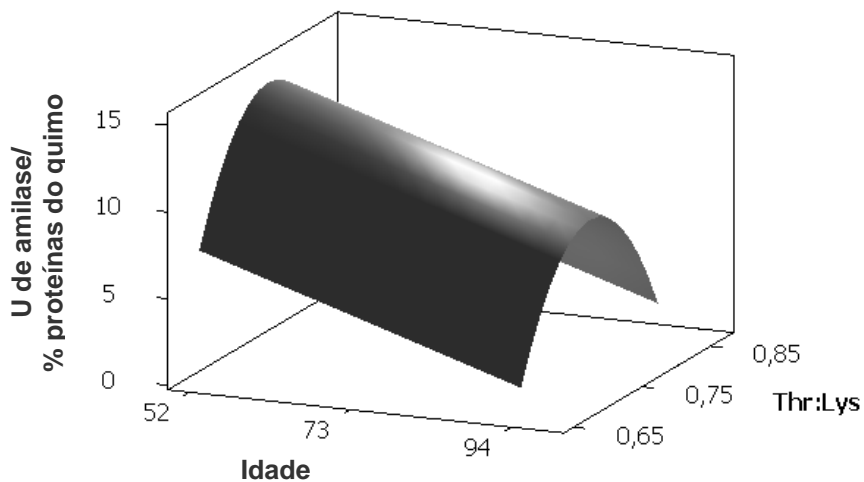


Figura 13 – Atividade específica da amilase do quimo em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

A atividade da amilase do quimo por grama de peso corporal apresentou modelo quadrático ($Y = -97,6017 + 268,566T - 179,288T^2 - 0,0006P$) para tratamento com maior atividade para a relação de 0,75 Thr:Lys na dieta e para o período teve modelo linear decrescente. Com o aumento da idade ocorreu um aumento do volume do quimo que produziu um efeito diluidor do conteúdo intestinal (Figura 14).

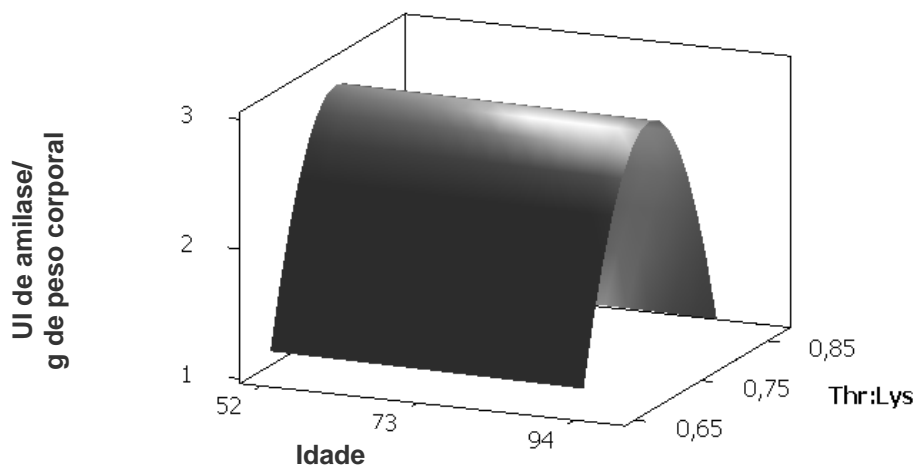


Figura 14 – Relação da atividade da amilase do quimo por grama de peso corporal em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Embora a atividade total da enzima tenha aumentado em relação da idade das aves, este aumento não foi capaz de acompanhar o aumento de peso e do conteúdo total do quimo. Isto fica claro quando foi observado a atividade da amilase por miligrama de quimo com o avanço da idade das aves. Neste caso, a atividade apresentou modelo linear decrescente, caracterizando o efeito diluidor do aumento do conteúdo do quimo. Porém, para a relação treonina:lisina, 0,75 Thr:Lys digestíveis na dieta foi a melhor relação em todas as variáveis analisadas no quimo. A relação de 0,85 Thr:Lys produziu efeito menor, coincidente com o menor efeito de atividade da amilase no pâncreas para a mesma relação.

A secreção e atividade da amilase têm sido usadas a fim de avaliar a influência de certos alimentos na secreção das enzimas digestivas pancreáticas (Yoshida et al., 1997). Dentre os nutrientes, a proteína da dieta tem sido classificada como um potente estimulador da secreção das enzimas pancreáticas através do estímulo da secreção da colecistoquinina (CCK) (Furuse, 1999). Contudo, a espécie animal, a fonte de proteína e a quantidade do alimento podem interferir na intensidade e qualidade do estímulo. Proteínas de origem animal são estimulantes mais potentes que proteínas de origem vegetal em cães, porém, em ratos a proteína de origem vegetal possui maior efeito. Em marrecos de pequim a quantidade de proteína interfere na atividade das enzimas amilase, tripsina e quimotripsina (Zhao et al., 2007). Kamisoyama et al. (2009) postularam que os níveis da proteína na ração interferem na

digestibilidade de proteínas, carboidratos e lipídios, através do estímulo que a proteína exerce sobre a secreção de CCK e, conseqüente, secreção das enzimas digestivas.

Todavia, com a utilização da prática de redução da quantidade de proteínas através da complementação de aminoácidos sintéticos na forma livre, suscitou na descoberta de que aminoácidos livres também interferem na secreção das enzimas digestivas do pâncreas através do estímulo via CCK (Yang et al., 1990). Yang et al. (1989a) testaram a administração endovenosa de várias misturas de aminoácidos sobre a secreção das enzimas digestivas pancreáticas associadas ou não à CCK. Os autores observaram que a combinação de fenilalanina + treonina foi a mais efetiva em estimular a secreção das enzimas do que a associação de treonina + isoleucina ou fenilalanina + isoleucina, sugerindo que a treonina e fenilalanina podem ter papel regulatório específico na secreção das enzimas digestivas de frangos quando administrados simultaneamente.

Contudo, Yang et al. (1989b) quando testaram isoladamente o efeito de vários aminoácidos observaram que em conjunto com CCK aumentaram a secreção de enzimas digestivas em diferentes graus, dependendo do tipo de aminoácido, porém, valina e arginina foram os mais efetivos. Ao contrário, no presente trabalho, doses crescentes de treonina reduziram a atividade pancreática de amilase, porém, no presente trabalho a dose de treonina não estava associada a CCK, e nem a outro aminoácido, além do que a via de administração do presente trabalho foi oral e no usado por Yang et al. (1990) foi endovenosa. Mandal et al. (2006) também observaram que a treonina estava envolvida na secreção de amilase pelo pâncreas, relatando também que a amilase é uma proteína que possui grande quantidade de treonina correspondendo a 110 mg.g^{-1} de proteína enzimática, portanto, a treonina pode ser essencial para a secreção da amilase.

A atividade lipase por peso do pâncreas in natura não foi significativa. O coeficiente de variação desta variável foi grande, não permitindo uma diferenciação do efeito tanto da relação treonina:lisina como da idade das aves. Porém, por miligrama de pâncreas, a atividade de lipase sofreu efeito da relação treonina:lisina apresentando modelo linear decrescente ($Y=9560,27-2146,27T-177,857P+1,0443P^2$), demonstrando que quanto maior a dose de

treonina, menor a atividade desta enzima. Para o período, o modelo foi quadrático com menor valor de atividade aos 73 dias de idade das aves (Figura 15).

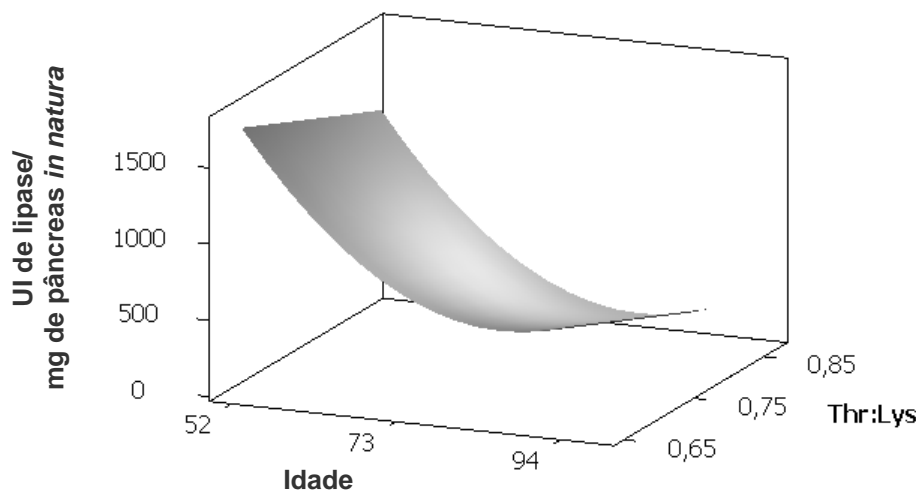


Figura 15 – Atividade da lipase por miligrama de pâncreas em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Tanto para a relação treonina:lisina quanto para idade das aves, a lipase apresentou o mesmo modelo de comportamento que a amilase, porém na literatura não foram encontrados trabalhos relacionados a atividade da lipase com níveis de aminoácidos da dieta. Entretanto, como as secreções pancreáticas são estimuladas de forma inespecífica pela CCK, é compreensível que ambas as enzimas apresentem mesmo padrão de comportamento, reforçando ainda mais o efeito apresentado pelos níveis de treonina na dieta em relação a atividade da amilase.

Para a atividade específica da lipase no pâncreas a relação treonina:lisina teve modelo linear decrescente ($Y=69845,6-16326,8T-1334,05P+8,1728P^2$), o que pode ter sido influenciado pelo aumento da quantidade de proteína do pâncreas, pois esta apresentou um modelo linear crescente. Porém, a idade das aves apresentou modelo quadrático, com menor atividade aos 73 dias de idade (Figura 16).

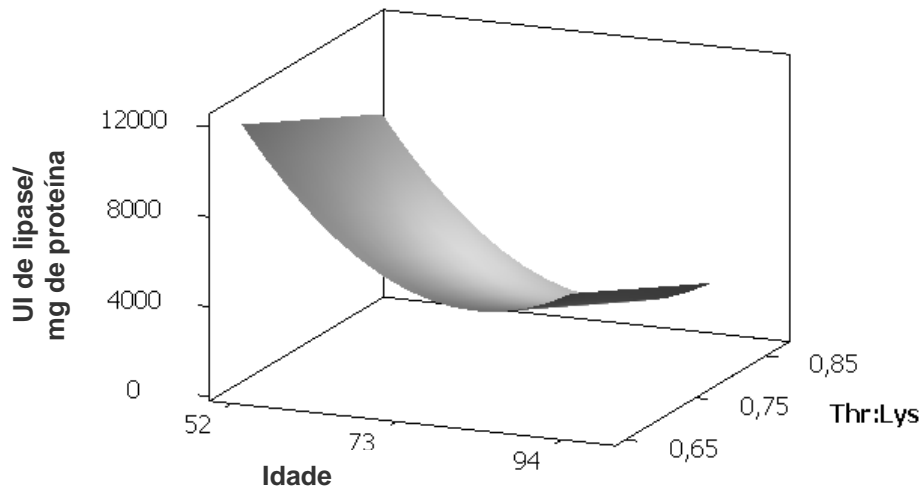


Figura 16 – Atividade específica da lipase no pâncreas em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Quando a atividade da enzima total no pâncreas foi expressa em grama de peso corporal, o aumento da relação treonina:lisina resultou em diminuição da atividade em modelo linear ($Y=28931,1-6394,16T-536,680P+3,1513P^2$). Para a idade o efeito na atividade foi caracterizado por um modelo quadrático com menor atividade no segundo período aos 73 dias de idade (Figura 17).

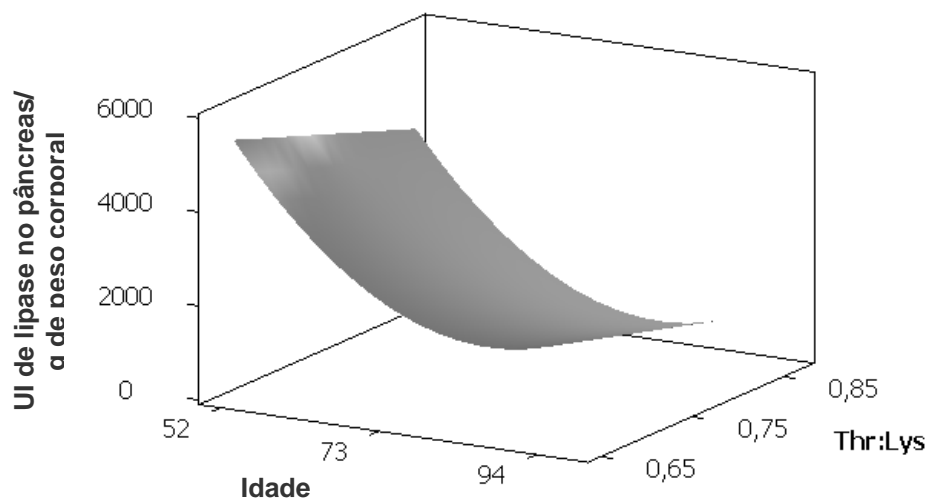


Figura 17 – Relação da atividade da lipase no pâncreas por grama de peso corporal em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

No quimo a atividade total da lipase não teve modelo significativo que explicasse, tendo variação totalmente aleatória. Quando a atividade foi relacionada com miligrama de quimo, esta apresentou para a relação treonina:lisina um modelo quadrático ($Y= -2210,87+6009,44T-$

$4031,59T^2+0,5669P$) com maior atividade na relação de 0,75 Thr:Lys (Figura 18). Para a idade das aves, o modelo linear foi o que melhor expressou a atividade da lipase por miligrama de quimo, sendo que, a atividade acompanhou o aumento da quantidade de quimo que também apresentou aumento de peso dentro do mesmo padrão de comportamento, diferente da atividade da amilase que reduziu com o aumento da quantidade de quimo quando se avaliou a idade das aves.

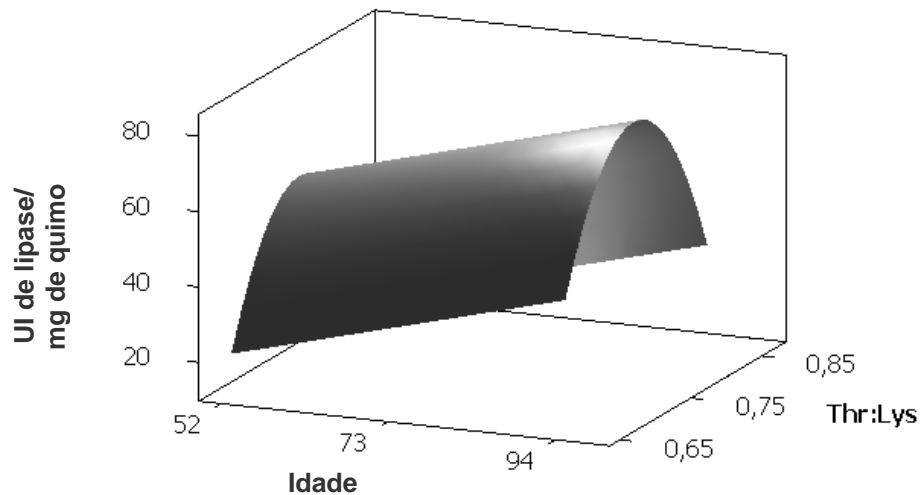


Figura 18 – Atividade da lipase por miligrama de quimo em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

A atividade específica da lipase que relaciona a atividade da enzima com a quantidade de proteína do quimo foi influenciada de forma quadrática ($Y=-34397,9+92551,3T-61900,1T^2+12,2551P$) pela relação treonina:lisina da dieta, obtendo maior atividade no quimo de aves alimentadas com dieta contendo a relação 0,75 Ter:Lys (Figura 19).

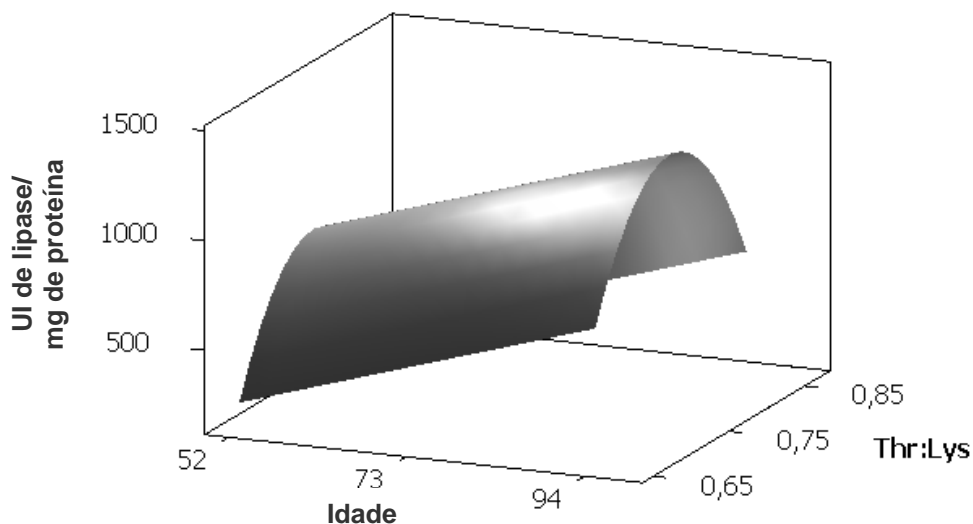


Figura 19 – Atividade específica da lipase no quimo em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Neste caso, a atividade da lipase aumentou juntamente com o aumento da quantidade do quimo, sendo diferente da atividade específica da amilase também para a idade das aves.

Quando a atividade foi expressa por grama de peso corporal, o modelo quadrático ($P < 0,05$) foi o que melhor expressou o efeito da relação Ter:Lys sobre a atividade da lipase ($Y = -1219,0 + 32,513T - 21687,5T^2 + 4,9099P$), sendo a relação 0,75 a que deu maior atividade (Figura 20). Houve aumento da atividade com o aumento da idade, sendo o modelo linear o que melhor expressou este comportamento.

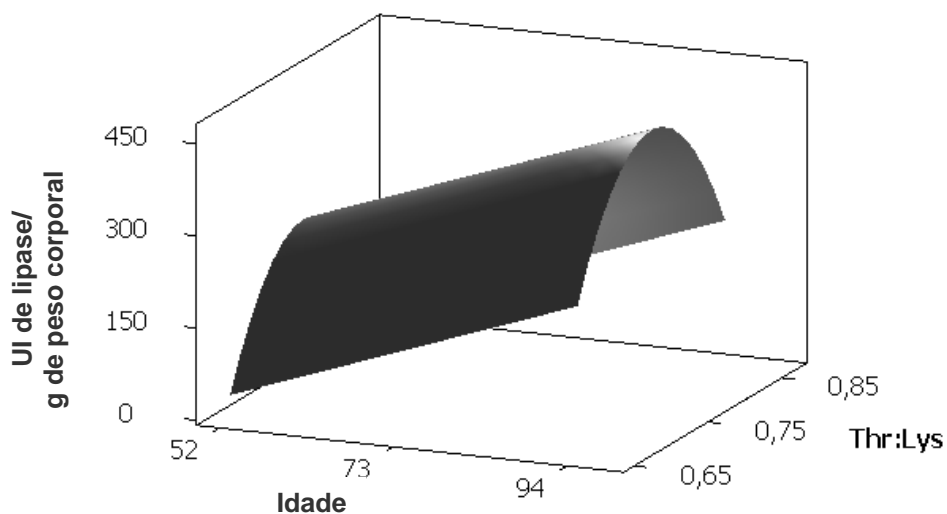


Figura 20 – Atividade da lipase no quimo por grama de peso corporal em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

4. CONCLUSÕES

A atividade da amilase e da lipase no pâncreas de codornas japonesas reduziu com o aumento da relação de treonina digestível:lisina digestível da dieta em todas as variáveis analisadas. Somente para a amilase a atividade específica foi maior na relação de 0,85 de treonina digestível:lisina digestível. Para a idade das aves as duas enzimas tiveram comportamento inverso.

Para a atividade da amilase e da lipase no quimo a relação treonina digestível:lisina digestível de 0,75 foi a que promoveu maior atividade em todas as variáveis analisadas. A maior atividade da lipase foi observada em todas as variáveis aos 93 dias de idade das codornas, enquanto que a amilase apresentou maior atividade aos 52 dias de idade das aves

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-MARZOOQI, W.; LEESON, S. Effect of dietary lipase enzyme on gut morphology, gastric motility and long-term performance of broiler chicks. **Poultry Science**. v.79, p.956-960, 2000.
- APPLEGATE, T. J.; KARCHER, D. M.; LILBURN, M. S. Comparative development of the small intestine in the turkey poult and Pekin duckling. **Poultry Science**. v.84, p.426-431, 2005.
- CARAWAY, W. T. A stable starch substrate for the determination of amylase in serum and other body fluids. **American Journal of Clinical Pathology**. v.32, p.97-99, 1959.
- CHOI, J. H.; SO, B. S.; RYU, K. S.; KANG, S. L. Effect of pelleted or crumbled diets on the performance and the development of the digestive organs of broilers. **Poultry Science**. v.65, p.594-597, 1986.
- COWIESON, A. J.; ADEOLAT, O. Carbohydrases, protease and phytase have additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. **Poultry Science**. v.84, p.1860-1867, 2005.
- DEATON, J. W.; BRANTON, S. L.; LOTT, B. D. Noted difference in the digestive system in caged and floor-reared commercial egg-type pullets. **Poultry Science**. v.64, p.1035-1037, 1985.
- DJOUVINOV, D.; MIHAILOV, R. Effect of low protein level on performance of growing and laying Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**. v.8, n.2, p.91-98, 2005.
- DUNNINGTON, E. A.; SIEGEL, P. B. Enzyme activity and organ development in newly hatched chicks selected for high eight-week body weight. **Poultry Science**. v.74, p.761-770, 1995.
- FURLAN, R. L.; CARVALHO, N. C.; MALHEIROS, E. B.; MACARI, M. Efeito da restrição alimentar inicial e da temperatura ambiente sobre o desenvolvimento de vísceras e ganho compensatório em frangos de corte. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.53, n.4, 2001.
- FURUSE, M. Release and Endogenous Actions of the Gastrin/Cholecystokinin (CCK) Family in the Chicken. **Journal of Experimental Zoology**. v.283, p.448-454, 1999.
- KAMISOYAMA, H.; HONDA, K.; ISSHIKI, Y.; HASEGAWA, S. Effects of dietary protein levels on the nutrition digestibility at different sites of chickens intestines. **Journal of Poultry Science**. v.46, p.193-197, 2009.

- KIDD, M.T.; GERARD, P.D.; HEGER, J.; KERR, B.J.; ROWE, D.; SISTANI, K.; BURNHAM, D.J. Threonine and crude protein responses in broiler chicks. **Animal Feed Science and Technology**. v.94, p.57-64, 2001.
- KROGDAHL, A.; SELL, J. L. Influence of age on lipase, amylase and protease activities in pancreatic tissue and intestinal contents of young turkeys. **Poultry Science**, v.68, p.1561-1568, 1989.
- LAW, G.K.; BERTOLO, R.F.; ADJIRI-AWERE, A.; PENCHARZ, P.B.; BALL, R.O. Adequate oral threonine is critical for mucin production and gut function in neonatal piglets. **American Journal of Physiology – Gastrointestinal and Liver Physiology**. v.292, p.1293-1301, 2007.
- LILJA, C. A comparative study of postnatal growth and organ development in some species of bird. **Growth**. v.47, p.317-329, 1983.
- LIMA, A. C. I.; PIZAURO Jr, J. M.; MACARI, M.; MALHEIROS, L. B. Efeito do uso de probiótico sobre o desempenho e atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.32, n.1, 200-207, 2003.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDAL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**. v.193, p.265-275, 1951.
- MAIORKA, A.; SANTIN, E.; SILVA, A. V. F.; ROUTMAN, K S.; PIZAURO Jr, J. M.; MACARI, M. Effect of broiler breeder age on pancreas enzymes activity and digestive tract weight of embryos and chicks. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**. v.6, n.1, p.19-22, 2004.
- MANDAL, A. B.; KAUR, S.; JOHRI, A. K.; ELANGOVAM, A. V.; DEO, C.; SHRIVASTAVA, H. P. Response of growing Japanese quails to dietary concentration of L-threonine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v.86, p.793–798, 2006.
- NITSAN, Z.; DUNNIGTON, E. A.; SIEGEL, P. B. Organ growth and digestive enzyme levels to fifteen days of age in lines of chickens differing in body weight. **Poultry Science**. v.70, p.2040-2048, 1991.
- O’SULLIVAN, N. P.; DUNNIGTON, E. A.; LARSEN, A. S.; SIEGEL, P. B. Correlated responses in lines of chickens divergently selected for fifty-six day body weight. 3. digestive enzymes. **Poultry Science**. v.71, p.610-617, 1992.
- PEREIRA, C. A. **Exigência nutricional de cálcio para codornas japonesas durante o pico de postura**. Viçosa, MG: UFV, 60p. Dissertação (mestrado em Nutrição de Monogástricos) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- PINTO, R.; DONZELE, J. L.; FERREIRA, A. S.; ALBINO, L. F. T.; SOARES, R. T. R. N.; SILVA, M. A.; PEREIRA, T. A. Exigência de metionina mais cistina para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**.

v.32, n.5, 2003.

- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; FERREIRA, A.S.; OLIVEIRA, R.F.M.; LOPES, D.C. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. Viçosa: Editora UFV, 2000, 141p.
- SELL, J. L.; ANGEL, C. R.; PIQUER, F. J.; MALLARINO, E. G.; AL-BATSHAN, H. A. Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. **Poultry Science**. v.70, p.1200-1205, 1991.
- SILVA, E.L.; SILVA, J.H.V.; JORDÃO FILHO, J.; RIBEIRO, M.L.G.; COSTA, F.G.P.; RODRIGUES, P.B. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.35, n.3, p.822-829, 2006.
- SURYAWAN, A.; O'CONNOR, P.M.J.; BUSH, J.A.; NGUYEN, H.V.; DAVIS, T.A. Differential regulation of protein synthesis by amino acids and insulin in peripheral and visceral tissues of neonatal pigs. **Amino Acids**. v.37, p.97-104, 2009.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA (UFV). SAEG. (Sistema de análises estatísticas e genéticas), Viçosa: MG, 2000 (8.0).
- YANG, S.I.; FURUSE, M.; MURAMATSU, T.; OKUMURA, J. Responses of the pancreatic digestive enzyme secretion to various combinations of amino acids and cholecystokinin in chicks (*Gallus domesticus*). **Comparative Biochemistry Physiology – American Comparative Physiology**. v.93, n.4, p.703-706, 1989a.
- YANG, S.I. MURAMATSU, T.; TASAKI, I.; OKUMURA, J. Responses of the pancreatic digestive enzyme secretion to amino acids, glucose and cholecystokinin in chicks.). **Comparative Biochemistry Physiology – American Comparative Physiology**. v.92, n.3, p. 313-317, 1989b.
- YANG, S.I.; FURUSE, M.; SUGISHITA, N.; OKUMURA, J. Effect of phenylalanine on pancreatic amylase secretion in chicks (*Gallus domesticus*). **Comparative Biochemistry Physiology – American Comparative Physiology**. v.97, n.4, p.531-533, 1990.
- YOSHIDA, H.; TSUNODA, Y.; OWYANG, C. Cholecystokinin peptides stimulate pancreatic secretion by multiple signal. **American Journal of Physiology**. Part 3, v.273, p.G735-747, 1997.
- ZHAO, F.; HOU, S.S.; ZHANG, H.F.; ZHANG, Z.Y. Effects of dietary metabolizable energy and crude protein content on the activities of digestive enzymes in jejuna fluid of peking ducks. **Poultry Science**. v.86, p.1690-1695, 2007.

CAPÍTULO III

Atividade da aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase e biometria do fígado de codornas japonesas alimentadas com dietas contendo diferentes relações treonina com lisina

1. INTRODUÇÃO

Os parâmetros bioquímicos séricos servem como bons indicadores para a determinação do status metabólico animal, podendo predizer alterações fisiológicas e patológicas. No caso da codorna, como é um animal utilizado para a produção de ovos, carne e também como animal de laboratório, a identificação dos parâmetros sanguíneos pode ser de valorosa ajuda em vários setores (Scholtz et al., 2009).

O fígado é um órgão central no metabolismo das aves, pois além do metabolismo de proteínas e carboidratos, é o principal local de síntese *de novo* de ácidos graxos e lipídios. Como as aves possuem um sistema linfático pouco desenvolvido, toda a gordura é transportada ao fígado na forma de portomicrons através do sistema porta hepático (Mossab et al., 2002).

No fígado, o excesso de aminoácidos da dieta pode ser convertido em outras substâncias de reserva como glicose ou mesmo ser oxidado. A distribuição relativa dos aminoácidos entre estas duas vias pode ser influenciada por vários fatores, incluindo o consumo total de proteína, que no caso de excesso promove a oxidação. Também, as quantidades de carboidrato e lipídios interferem nas atividades das enzimas hepáticas responsáveis pela oxidação dos aminoácidos (Brooks & Lampi, 1995).

As enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) são denominadas de enzimas de equilíbrio porque catalisam passos altamente regulados na via metabólica dos aminoácidos (Brooks & Lampi, 1995). A determinação de suas atividades pode predizer mais precisamente alterações provenientes de modificações nas quantidades de proteína, ou mesmo de apenas um aminoácido da dieta. Contudo, muitos fatores externos como temperatura, umidade, altitude, duração do dia e disponibilidade de comida e fatores internos como idade e doenças influenciam o perfil sanguíneo destes animais (Juráni et al., 2004). A concentração de proteínas plasmáticas totais é um ponto comum utilizado para estimar as condições corporais das aves. Albumina serve com fonte de proteína sob condições de ingestão subnormal, e ambos, proteína total e albumina diminuem em frangos mantidos em condições de restrição alimentar (Rajman et al., 2006). O estresse pode

alterar a preferência por determinados nutrientes, que se não estiverem disponíveis, podem reduzir o consumo e prejudicar o desempenho. Malheiros et al. (2003) testaram dietas com variações nos níveis de proteína, carboidrato e lipídios, associadas às doses de corticosterona. Observaram uma mudança na preferência de alimentos e também alterações metabólicas com mudanças nos padrões bioquímicos séricos dos animais.

Frangos alimentados com uma dieta contendo níveis adequados de proteína, mas com uma pequena deficiência de treonina quando suplementados com outros aminoácidos como serina, aminoácidos ramificados e triptofano afetaram negativamente o desempenho. Em parte isto pode ser explicado, pois os aminoácidos ramificados competem pelo mesmo sítio de transporte que a treonina no intestino (Davis & Austic, 1982). Porém, a treonina também está diretamente envolvida na excreção de nitrogênio, pois é precursora da glicina, que é o aminoácido constituinte do ácido úrico, a maior forma de excreção de nitrogênio em aves. Portanto, quando existe um excesso de proteína na dieta ou quando ocorre um desbalanço de aminoácidos, a deficiência de treonina aumenta (Kidd et al., 2001; Kidd & Kerr, 1996).

Muitos trabalhos têm sido desenvolvidos com o objetivo de se reduzir os níveis protéicos das dietas. Este fato é sustentado, porque a proteína é o ingrediente que mais onera a ração e também, quanto maior o nível de proteína da ração maior será a excreção de nitrogênio nas excretas. Contudo, dietas a base de milho e soja para aves, são deficientes em aminoácidos essenciais, então, quando se reduz os níveis protéicos faz-se necessária a adição destes aminoácidos na forma sintética. Dependendo de quanto se reduz os níveis de proteína, também se torna necessário a adição de treonina, pois é o terceiro aminoácido limitante, sendo antecedida apenas pelos aminoácidos sulfurados e lisina (Kidd et al., 2001). Como a treonina está diretamente relacionada com o metabolismo hepático de todos os outros aminoácidos, objetivou-se com este trabalho avaliar e correlacionar as atividades hepáticas e séricas das enzimas AST e ALT, bem como as proteínas totais do soro e fígado com níveis diferentes de treonina em codornas em fase de postura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa – MG, com duração de 63 dias. Foram utilizadas 60 codornas japonesas fêmeas (*Coturnix coturnix japonica*) com 52 dias de idade, peso médio de 153,5g. Inicialmente, as aves com 36 dias de idade foram alojadas nas gaiolas de acordo com o peso corporal e uniformizadas (peso médio de 109g). Posteriormente, ao início da postura, as codornas foram uniformizadas pela taxa de postura para que as unidades experimentais iniciassem o experimento nas mesmas condições. As aves foram alojadas em gaiolas de arame galvanizado com dimensões de 100x23x20 cm (comprimento x largura x altura), montadas em esquema de escada. Cada gaiola foi subdividida em 4 repartições de 25 cm, sendo alojadas 5 aves em cada repartição. O comedouro e o bebedouro utilizados foram do tipo calha, em chapa metálica galvanizada, sendo o comedouro na parte frontal e o bebedouro na parte anterior da gaiola. O piso de cimento abaixo das gaiolas foi coberto com maravalha associado a cal, para absorver o excesso de umidade das excretas.

As dietas foram formuladas a base de farelos de milho, de soja e farelo de glúten de milho, sendo utilizadas as recomendações preconizadas pelo NRC (1994) para atender às exigências nutricionais das codornas, exceto para as exigências de metionina + cistina digestíveis e de cálcio, que foram baseadas nas recomendações de Pinto et al. (2003) e Pereira (2004), respectivamente. Ainda, foram acrescentados 4% nas exigências de cada aminoácido para assegurar que não ocorressem deficiências. A composição química e nutricional dos ingredientes utilizados para a formulação da dieta foram segundo Rostagno et al. (2000).

A dieta basal foi suplementada com três níveis de L-Treonina 98% (0,018; 0,128 e 0,239%) em substituição ao ácido glutâmico, em equivalente protéico, correspondendo à relação treonina digestível:lisina digestível de 0,65; 0,75 e 0,85, mantendo-se as dietas isoprotéicas, isocalóricas e isonitrogênicas. As diferenças entre os equivalentes protéicos de treonina e ácido glutâmico, nos diferentes níveis de treonina, foram compensados pelo amido (Tabela 1).

Tabela 1 – Composições das dietas experimentais na matéria natural

Ingredientes (%)	Relação treonina digestível:lisina digestível		
	0,65	0,75	0,85
Milho	55,969	55,969	55,969
Farelo de soja (45%)	29,285	29,285	29,285
Farelo de glúten (60%)	1,071	1,071	1,071
Óleo vegetal	2,871	2,871	2,871
Fosfato bicálcico	1,611	1,611	1,611
Calcário	7,004	7,004	7,004
L-Arginina (99%)	0,165	0,165	0,165
L-Lisina.HCL (79%)	0,140	0,140	0,140
DL-Metionina (99%)	0,313	0,313	0,313
L-Treonina (98%)	0,018	0,128	0,239
L-Triptofano (98%)	0,027	0,027	0,027
L-Isoleucina	0,214	0,214	0,214
L-Valina	0,181	0,181	0,181
L-Glutâmico	0,599	0,458	0,304
Amido	0,250	0,281	0,324
Cloreto de colina (60%)	0,100	0,100	0,100
Surmax ¹	0,010	0,010	0,010
BHT ²	0,010	0,010	0,010
Mistura mineral ³	0,050	0,050	0,050
Mistura vitamínica ⁴	0,100	0,100	0,100
Sal	0,285	0,285	0,285
Total	100,00	100,00	100,00
Composição Calculada:			
Proteína bruta (%)	20,000	20,000	20,000
Energia metabolizável (kcal/kg)	2910	2910	2910
Arginina digestível (%)	1,300	1,300	1,300
Lisina digestível (%)	1,000	1,000	1,000
Metionina digestível (%)	0,586	0,586	0,586
Metionina+cistina digestível (%)	0,840	0,840	0,840
Treonina total (%)	0,745	0,853	0,962
Treonina digestível (%)	0,650	0,750	0,850
Triptofano digestível (%)	0,230	0,230	0,230
Isoleucina digestível (%)	0,940	0,940	0,940
Valina digestível (%)	0,960	0,960	0,960
Cálcio (%)	3,200	3,200	3,200
Fósforo disponível (%)	0,400	0,400	0,400
Sódio (%)	0,150	0,150	0,150

¹ Avilamicina

² Butil-hidróxi-tolueno (antioxidante)

³ Composição/kg de produto: vit. A:12.000.000UI, pantotênico: 12.000mg, biotina: 200mg, vit. K: 3.000mg, veículo q.s.p.: 1.000g

⁴ Composição /kg de produto: manganês: 160g, zinco: 100g, cobre: 20g, cobalto: 2g, iodo: 2g, excipiente q.s.p.: 1000g

A dieta e a água foram fornecidas à vontade durante todo período experimental. As temperaturas e a umidade relativa das salas foram

monitoradas durante o dia, às 8 e às 16 horas, por meio de termômetros de máxima e mínima e de bulbo seco e úmido, posicionados entre as fileiras de gaiolas, à altura das aves. Aos 40 dias de idade das aves, teve início o programa de iluminação com fornecimento inicial de 14 horas de luz diárias, e com aumentos semanais de 30 minutos de luz até atingir 17 horas de luz por dia, permanecendo o mesmo até o término do período experimental. Este fornecimento de luz foi controlado por um relógio automático (*timer*), conforme o procedimento adotado em granjas comerciais.

Foi realizado um experimento em esquema de parcelas subdivididas, onde as relações treonina:lisina (0,65, 0,75 e 0,85) foram casualizadas às parcelas no delineamento em blocos casualizados com 4 repetições, sendo o período avaliado na subparcela.

Foi utilizada análise de variância e de regressão com o objetivo de estimar a melhor equação que modela os efeitos dos dois fatores sobre as características estudadas, cujos coeficientes foram tratados pelo teste t a 5% de probabilidade. As análises das variáveis foram feitas utilizando o programa SAEG – Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas – UFV (2000).

Ao término de cada período experimental, foi selecionada ao acaso uma ave de cada repetição e sacrificada por deslocamento cervical, o sangue e os fígados coletados foram imediatamente pesados e congelados em nitrogênio líquido, identificados e armazenados a -20 °C para posteriores análises.

O fígado foi descongelado dentro da geladeira em banho de gelo e, em seguida, aproximadamente 100 mg foi adicionado a 10 mL de água destilada e deionizada gelada e homogeneizado com a utilização de agitador Potter-Ev, modelo TE-099, Tecnal. As amostras foram então centrifugadas em centrífuga a 7500 x g por 10 minutos e o sobrenadante utilizado para as determinações das atividades das enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST).

Para a obtenção do soro, o sangue, depois de coletado, foi deixado em repouso à temperatura ambiente, durante 15 minutos. Em seguida as amostras foram centrifugadas a 7100 x g, durante 10 minutos, depois pipetado o sobrenadante (Lima et al., 2001) que foi utilizado para a determinação das atividades enzimáticas de AST e ALT.

As atividades das transaminases foram determinadas utilizando *kits* comerciais. O método se baseia na propriedade dessas enzimas catalisarem a transferência do grupamento amino de um alfa-aminoácido para um alfa-cetoácido. Os produtos formados reagem com a dinitrofenilhidrazina formando hidrazona. A intensidade da coloração da hidrazona formada em meio alcalino é diretamente proporcional à quantidade de oxaloacetato (AST) e piruvato (ALT) formado em determinado tempo, que por sua vez é em função da atividade enzimática. A absorbância da mistura reacional foi medida a 505 nm e a intensidade da coloração formada é proporcional à quantidade de produto formado e o zero foi ajustado acertado com água destilada e deionizada.

Para determinar o teor de proteína solúvel total no fígado e no soro sanguíneo foi utilizado o método Lowry (1951). Esse método baseia-se numa mistura contendo molibdato, tungstato e ácido fosfórico (reagente Folin – Ciocalteu), que é reduzido quando reage com proteínas, na presença do cobre (II), e produz um composto que apresenta absorção máxima em 700 nm. Durante a reação ocorre uma redução das cadeias laterais de alguns aminoácidos (tirosina, triptofano, cisteína, asparagina e histidina), que contribuem com quatro elétrons, ou através de dois elétrons de cada unidade tetrapeptídica dos peptídeos e proteínas, que é facilitada pela formação do quelato entre o cobre (II) e peptídeos/proteínas. A curva padrão foi determinada utilizando albumina sérica bovina (BSA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A proteína total no soro apresentou comportamento linear decrescente ($Y=3,9379-3,2106T+0,1290P-0,0010P^2$), com o aumento da relação Thr:Lys na dieta e comportamento quadrático com maior quantidade de proteína aos 73 dias de idade das aves (Figura 1).

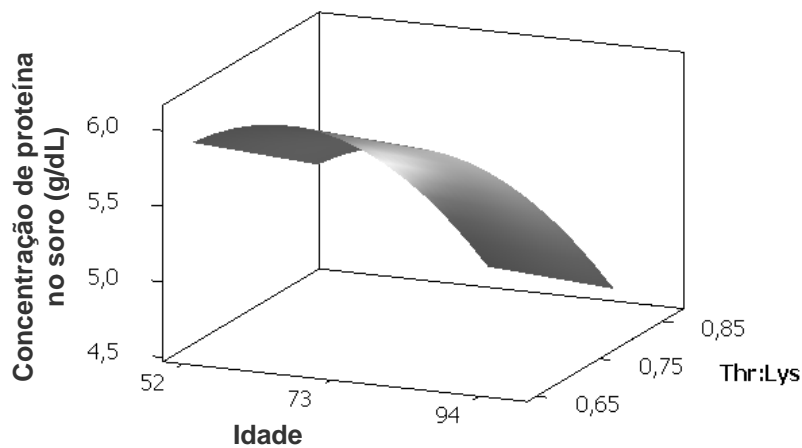


Figura 1 – Teor de proteína total no soro sanguíneo em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Houve aumento linear ($P < 0,05$) da albumina no soro com o aumento da relação treonina:lisina na dieta ($Y = 1,7571 + 0,1251T + 0,0007P$) e com o avanço da idade das aves (Figura 2).

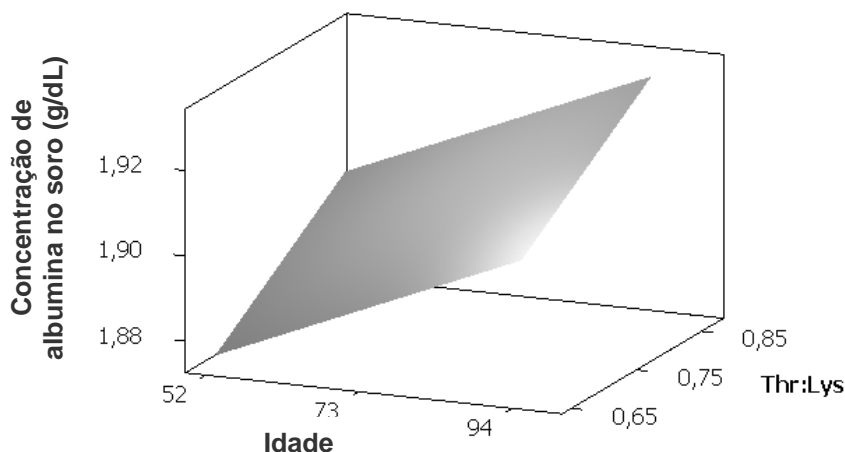


Figura 2 – Teor de albumina no soro sanguíneo em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

As globulinas apresentaram modelo linear para a relação Thr:Lys ($Y = 2,1365 - 3,3357T + 0,1296P - 0,0010P^2$), sendo que houve redução com o aumento da relação Thr:Lys, porém para a idade das aves, o modelo que melhor expressou o comportamento desta variável foi o quadrático com maior quantidade de globulinas aos 73 dias de idade das aves (Figura 3).

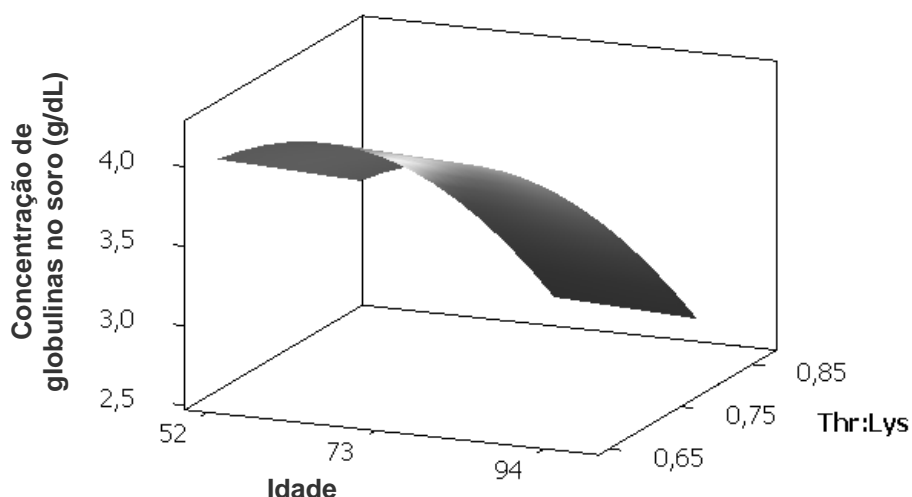


Figura 3 – Teor de globulinas no soro sangüíneo em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Para a relação albumina:globulina o modelo que melhor explicou o efeito da relação Thr:Lys foi linear ($Y=1,0084+1,0244T-0,0385P+0,0003P^2$), com aumento da relação à medida que aumentou a relação de treonina digestível:lisina digestível. Para a idade das aves, o modelo mais ajustado foi quadrático, sendo a menor relação albumina:globulina apresentada na idade de 73 dias (Figura 4).

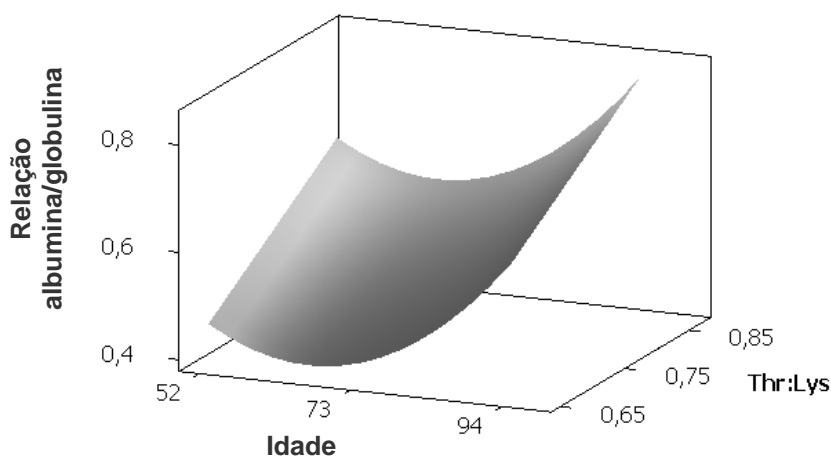


Figura 4 – Relação albumina:globulina no soro sangüíneo em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

A quantidade de proteína plasmática total é considerada como o ponto final para a avaliação das condições corporais das aves. Cerca de 40 a 50% das proteínas totais é constituída de albumina, sendo sintetizada no fígado (Schmidt et al., 2007). A albumina serve como fonte de proteína quando o animal é submetido a uma condição de subalimentação (Rajman et al., 2006).

Muito embora, seja considerado que aminoácidos não são estocados no organismo, este fato, pelo menos demonstra que fatores nutricionais podem interferir na quantidade de albumina sanguínea e hepática, como o observado no presente trabalho, onde houve aumento crescente desta proteína com o aumento da quantidade de treonina na dieta. Contudo, no caso de codornas fêmeas em postura, o tempo de vida média das proteínas hepáticas e do soro são menores, possivelmente devido a demanda de proteínas para a produção de ovos. A idade também interfere no tempo de vida média das proteínas, pois codornas jovens apresentam maior tempo de vida média que adultos, possivelmente pelo maior reaproveitamento dos aminoácidos devido a maior taxa de síntese nestes animais (Bush & Marquardt, 1978). A variação da relação albumina:globulina no presente trabalho, de forma quadrática na idade das aves se deveu ao aumento da quantidade de globulinas no mesmo perfil. As globulinas podem aumentar na fase inicial de postura devido ao estrógeno necessário à produção de ovos, podendo esta ser a causa do aumento dessa classe de proteínas aos 73 dias de idade (Schmidt et al., 2007).

As enzimas AST e ALT apresentaram menor atividade no soro na relação de 0,75 de treonina digestível:lisina digestível (Figuras 5 e 6), sendo o modelo quadrático o que melhor explicou o comportamento das mesmas ($Y=2350,12-5755,55T+3960,88T^2+2,8518P$ e $Y=231,990-655,637T+441,415T^2+354,845P$, respectivamente). Para a idade das aves, ambas as enzimas aumentaram a atividade de forma linear.

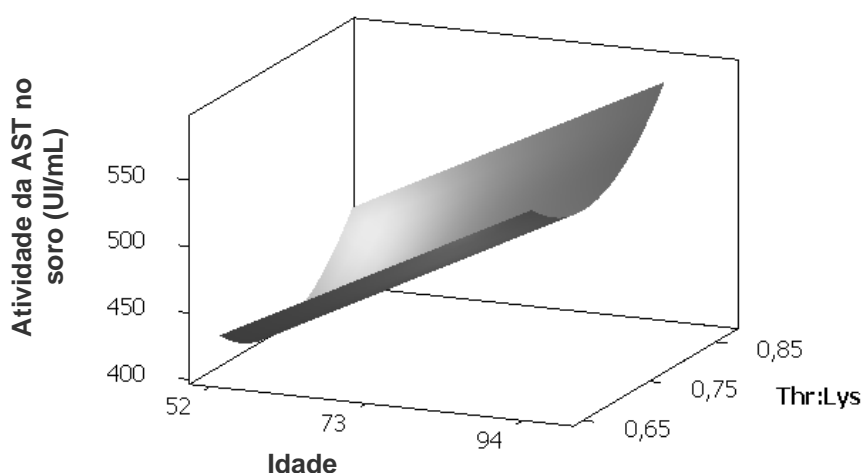


Figura 5 – Atividade de AST no soro sanguíneo em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

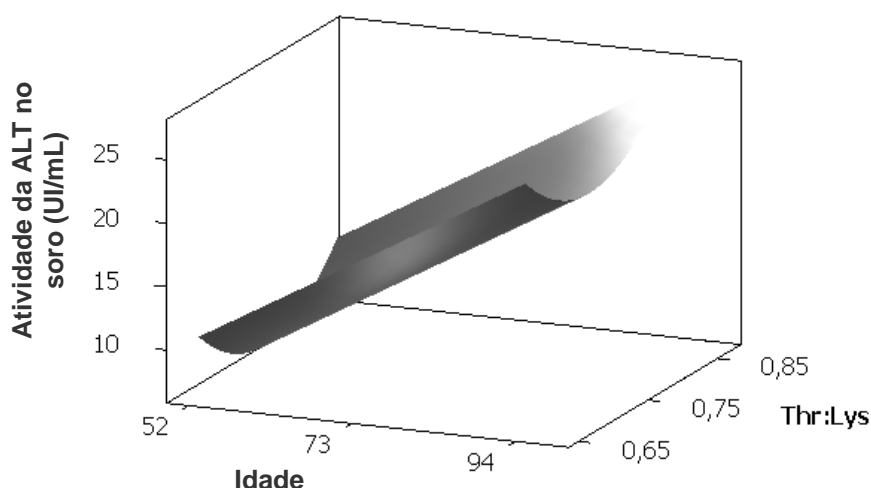


Figura 6 – Atividade de ALT no soro sanguíneo em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

A atividade aumentada das duas enzimas no soro sanguíneo está associada a lesões hepáticas ou do tecido muscular, principalmente se as atividades no fígado estiverem muito reduzidas (Akiba & Matdumoto, 1980). Muito embora, as atividades séricas desta enzimas estejam associadas a lesões teciduais do fígado, rim e músculos, Fairbrother et al. (1990) em conformidade com o presente trabalho também verificou aumento da atividade de AST e ALT em aves na fase de postura. Alonso Alvares et al. (2007) também observaram que fêmeas de aves marinhas em postura tiveram maiores níveis de AST que machos. Contrariamente ao presente trabalho, Borsa et al. (2006) não observaram aumento da atividade de AST e ALT em relação a idade em frangos de corte.

O peso corporal e o peso do fígado apresentaram modelo linear de resposta para a relação Thr:Lys ($Y = -101,026 - 24,5833T + 7,8074P - 0,0518P^2$ e $Y = -7,2817 - 1,6963T + 0,3502P - 0,0023P^2$, respectivamente), tendo sido influenciados negativamente com o aumento da relação Thr:Lys, porém, para a idade das aves, o modelo que expressado foi quadrático com melhor desempenho para os animais aos 73 dias para ambas variáveis (Figura 7 e 8, respectivamente). Contudo, quando comparamos a relação do peso do fígado com o peso corporal do animal, não houve modelo que explicasse significativamente tal relação.

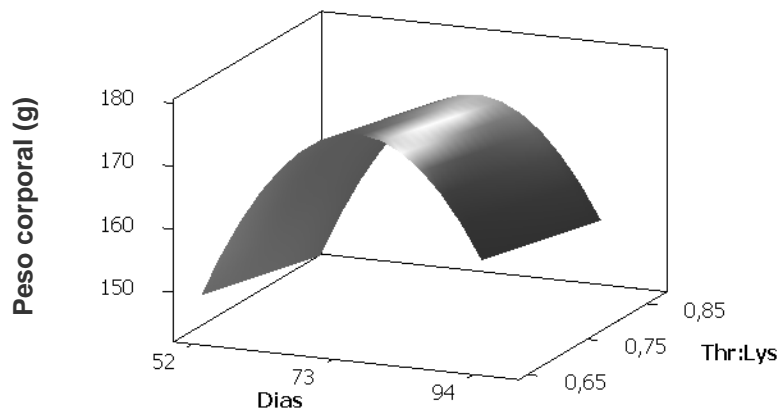


Figura 7 – Peso corporal das codornas em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

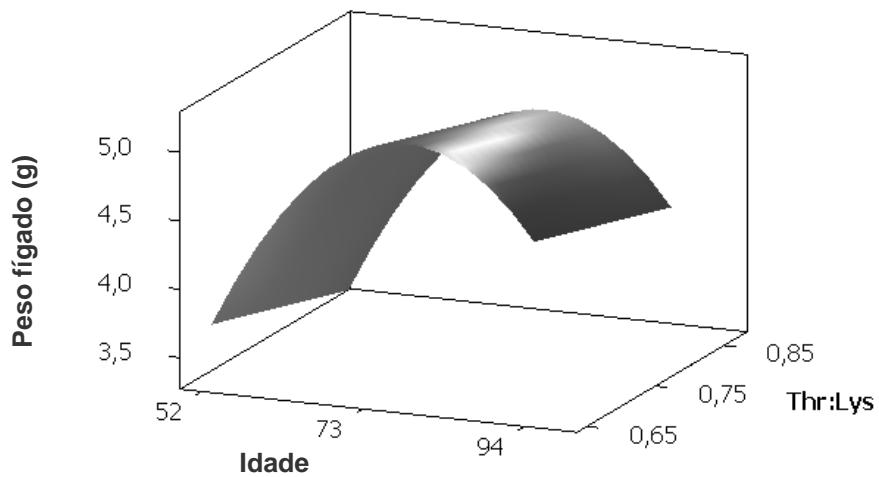


Figura 8 – Peso do fígado em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

A quantidade de proteína presente em miligrama de fígado foi expressa por modelo quadrático para a relação Thr:Lys e linear para a idade das aves ($Y=3,4268+10,1225T-6,7049T^2-0,0017P$). A relação 0,75 de treonina:lisina apresentou maior quantidade de proteína por miligrama de fígado, porém para a idade das aves, a quantidade maior de proteína foi observada em aves com 52 dias (Figura 9).

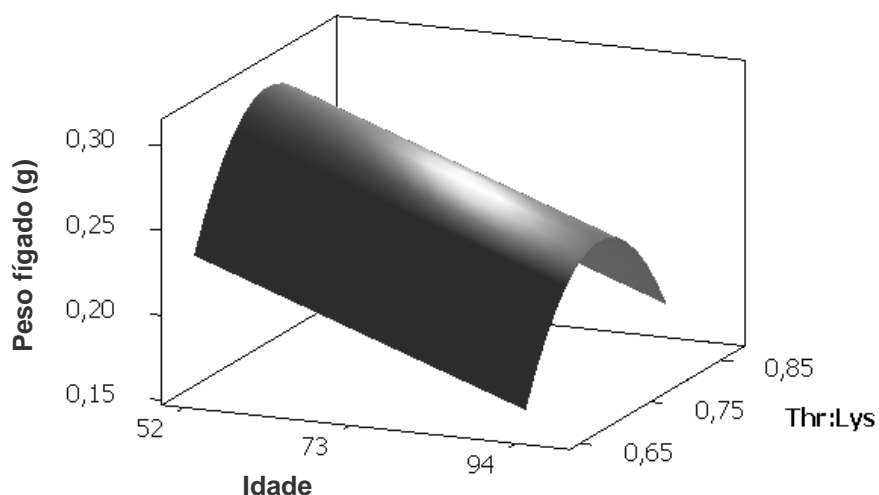


Figura 9 – Teor de proteínas em miligrama de fígado em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Embora no presente trabalho, o aumento da relação Thr:Lys produziu um efeito adverso para o peso do fígado, a quantidade de proteína no fígado aumentou com o aumento da relação Thr:Lys até a 0,75, e reduziu com 0,85 de treonina:lisina. Em conformidade com Wang et al. (2007), que trabalhando com leitões jovens, observaram que baixas relações de treonina:lisina prejudicaram a síntese de proteína no fígado e, que, altas relações de treonina:lisina também apresentaram efeitos negativos na síntese hepática de proteínas, apesar de menos intenso que nos músculos. Da mesma forma, Suryawan et al. (2009) observaram que houve uma relação direta entre a síntese de proteínas no fígado e a quantidade de aminoácidos na ração e que as doses dos aminoácidos na dieta tiveram um efeito independente de insulina sobre o estímulo da síntese de proteínas do fígado em ratos e leitões. Contudo, não só a quantidade, mas também as relações dos aminoácidos devem ser consideradas, principalmente quando dietas são formuladas com base no conceito de proteína ideal, como no presente trabalho, onde se reduziu os níveis de proteínas para causar uma deficiência de treonina. Neste caso, pôde também ter comprometido a quantidade dos aminoácidos ramificados, principalmente a valina que parece ser o quarto aminoácido limitante para aves nestas condições (Corzo et al., 2008). Berres et al., (2007) estudando respostas de frangos de corte submetidos a níveis crescentes de treonina observaram que, mesmo os animais suplementados com treonina sintética para atingir a relação desejada, não foram capazes de apresentar o mesmo

desempenho que animais alimentados com dietas em que os níveis de treonina foram alcançados com aumento da suplementação de farelo de soja. Estes autores atribuíram ao fato de que, quando se aumentou a quantidade de farelo de soja, outros aminoácidos também foram acrescidos, incluindo os ramificados. Suryawan et al. (2009) testaram a atividade de síntese protéica em leitões através da infusão de aminoácidos ramificados, pois também estavam interessados em verificar o desempenho da síntese protéica no tecido muscular e observaram que os aminoácidos tiveram efeito significativo em estimular a síntese protéica tanto no músculo quanto no fígado.

A atividade total da enzima aspartato aminotransferase (AST) no fígado apresentou modelo quadrático para o tratamento ($Y = -1286,51 + 3600,69T - 2417,08T^2 + 0,6942P$) com maior atividade para a relação de 0,75 treonina:lisina digestíveis, e para o período, apresentou modelo linear com maior nível de atividade no terceiro período de 93 dias (Figura 10).

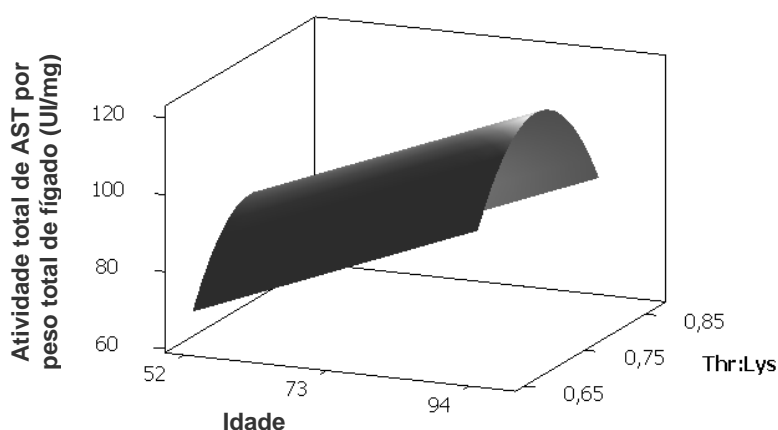


Figura 10 – Atividade da AST no fígado em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Quando a atividade de AST foi expressa por miligrama de proteína no fígado representando a atividade específica, esta apresentou modelo linear decrescente ($Y = 341,195 - 21,0986T - 7,4566T + 0,0562P^2$), com redução da atividade com o aumento da relação Thr:Lys (Figura 11). Para a idade das aves, apresentou modelo quadrático com menor atividade aos 73 dias de idade.

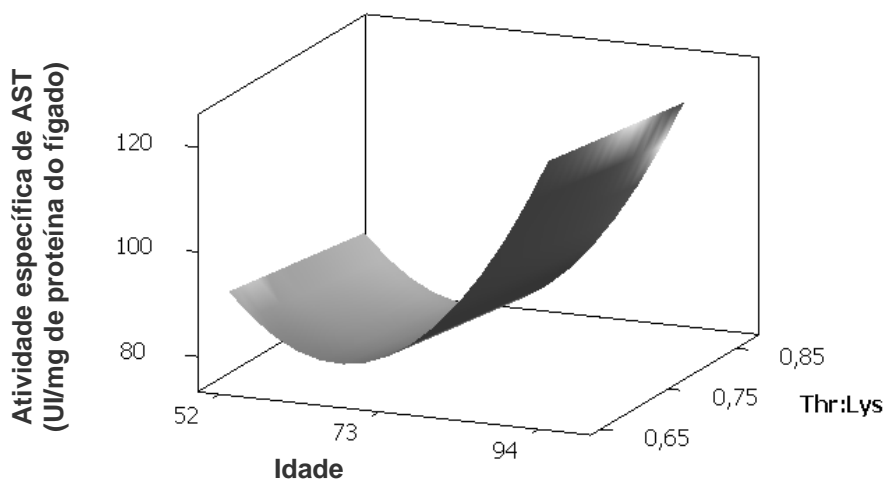


Figura 11 – Atividade da AST por miligrama de proteína do fígado em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Para a relação da atividade de AST por grama de peso corporal a equação $Y=572,242-4,9358T-13,9388P+0,0960P^2$ foi a que melhor expressou o efeito da relação Thr:Lys e da idade das aves. Esta relação reduziu de forma linear com o aumento da relação Thr:Lys. Para a idade das aves, o modelo foi quadrático, com menor atividade aos 73 dias (Figura 12).

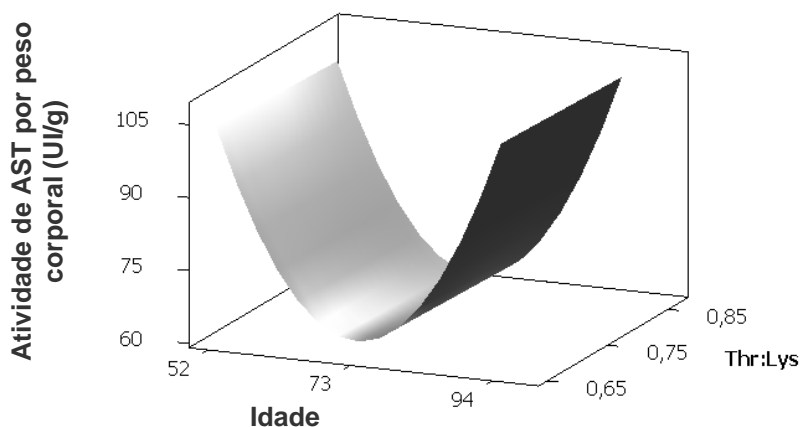


Figura 12 – Atividade de AST do fígado por grama de peso corporal em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Deficiências dietéticas são comuns em espécies que estão sempre sofrendo incremento genético para a produção. A avaliação dos parâmetros bioquímicos sanguíneos são os únicos que podem prever com certa exatidão problemas metabólicos e nutricionais (Bovera et al., 2007). A AST está presente frequentemente em células parenquimais hepáticas, porém, também

está presente em hemácias e músculo cardíaco e esquelético. Esta enzima está envolvida na transaminação de aminoácidos gliconeogênicos para a produção de glicose (Scholtz et al., 2009). Portanto, o aumento da atividade desta enzima no fígado pode ser um indicativo de que, uma maior quantidade de aminoácidos está sendo utilizada como fonte de esqueleto de carbono para a produção de glicose e, portanto, sugerindo que, ou existe um excesso de aminoácidos, ou então, um desequilíbrio entre eles. Entretanto a redução dos níveis de atividade no fígado com aumento da atividade no plasma é indicativo de lesão hepática (Akiba & Matdumoto, 1980). Portanto, no presente trabalho se observarmos esta linha de análise, a relação de treonina:lisina de 0,75 digestíveis foi a que apresentou melhor resultado para AST, pois, nesta relação, foi observada menor atividade no soro enquanto que no fígado observou-se maior atividade para a enzima AST.

A atividade total da enzima alanina aminotransferase (ALT) no fígado apresentou modelo linear que foi o que melhor explicou o efeito da relação Thr:Lys e da idade das aves ($Y=3,5484-1,4573T+0,0091P$). O aumento relação Thr:Lys reduziu a atividade da enzima, e para a idade das aves, o aumento da atividade foi crescente com o aumento da idade (Figura 13).

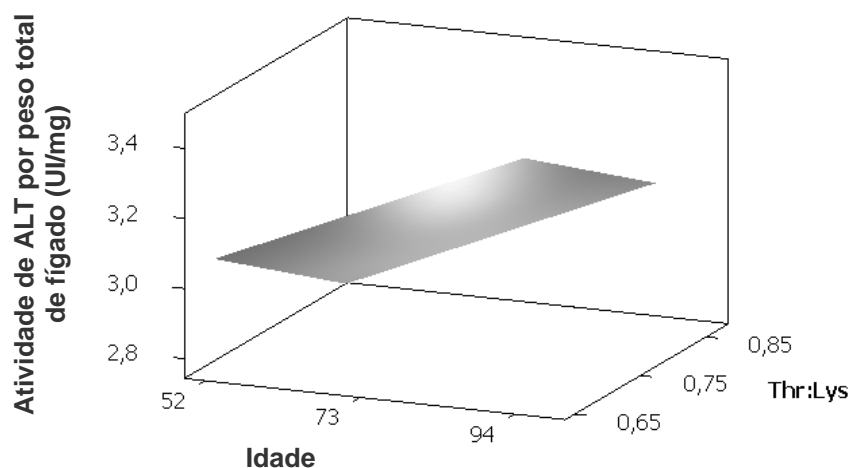


Figura 13 – Atividade de ALT no fígado em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Quando a atividade de ALT foi relacionada por miligrama de proteínas do fígado, ela apresentou o mesmo comportamento para a relação Thr:Lys e a idade das aves como na atividade do órgão inteiro ($Y=3,4389-0,8804T+0,0076P$), demonstrado na Figura 14.

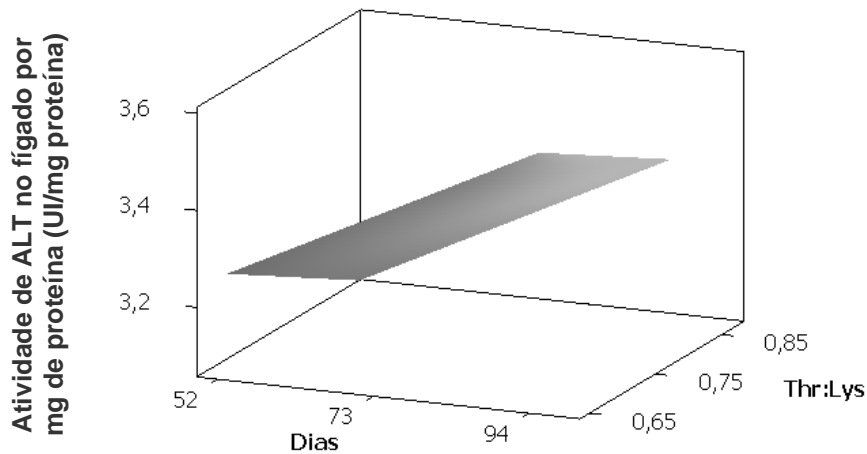


Figura 14 – Atividade de ALT do fígado por miligrama de proteína em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

Para a atividade da enzima por grama de peso corporal, ambos, relação Thr:Lys e idade das aves, foram significativos de acordo com a equação $Y = -6,6554 + 48,6673T - 32,6291T^2 - 0,2216P + 0,0014P^2$, onde a relação Thr:Lys apresentou uma resposta quadrática com maior atividade para a relação de 0,75, e para a idade das aves apresentou resposta quadrática, mas ao contrário relação Thr:Lys em seu modelo, a idade de 73 dias a atividade da ALT teve sua menor expressão (Figura 15).

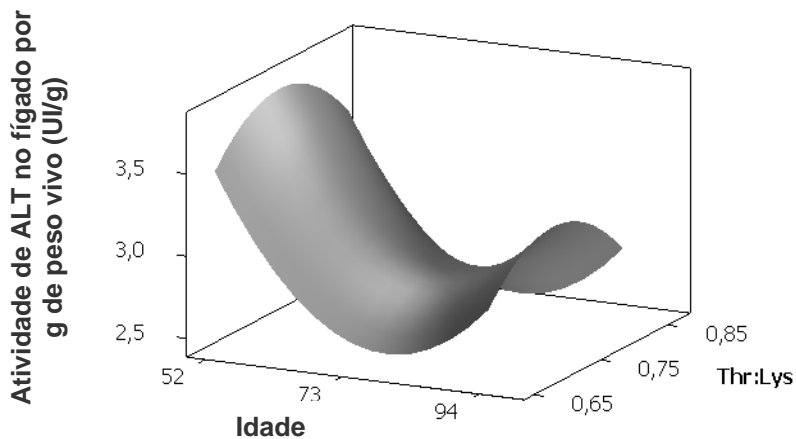


Figura 15 – Atividade de ALT do fígado por grama de peso vivo em função das relações treonina:lisina da dieta e da idade das aves

A ALT é uma enzima que está presente no citosol dos hepatócitos, mas também está presente em músculo e outros tecidos de aves. Quando existe a possibilidade de dano muscular nas aves, a ALT é considerada uma enzima de pouco valor, pois lesões no músculo podem alterar sua atividade no soro em

até 200 vezes, por isso muitas vezes esta enzima é omitida para análises em aves (Harr, 2002). Contudo, no presente trabalho, a possibilidade de danos musculares não foi considerada como regra para efeito das alterações das relações Thr:Lys na dieta, sendo, portanto, a variação da atividade usada para comparações nas possíveis alterações do metabolismo dos aminoácidos, visto que esta enzima é responsável pela transaminação do α -cetogluturato à glutamato via alanina. Brooks & Lampi (1995) também observaram alteração na sua atividade devido a alterações no tipo de dieta. Em conformidade com o presente trabalho em que o aumento da relação Thr:Lys proporcionaram variações na atividade hepática de ALT, sendo para esta enzima a maior relação de treonina:lisina digestíveis melhor para o metabolismo de aminoácidos no fígado. Porém, como a relação de 0,75 treonina:lisina no soro teve menor atividade, expressando menor extravasamento de enzima hepática, esta relação de 0,75 pode ser considerada a melhor relação. Fairbrother et al. (1990) também observaram diferenças na atividade de ALT em fêmeas de marrecos em diferentes fases de postura.

4. CONCLUSÕES

As variações da relação Thr:Lys na dieta interferiram na quantidade de proteínas totais, albumina e globulinas no soro. Porém, considerando os aspectos fisiológicos correlacionados ao papel da albumina, a relação de 0,85 treonina digestível:lisina digestível foi a que proporcionou melhor resultado.

Para a atividade de AST e ALT no soro que expressa geralmente danos celulares nos tecidos, a relação de treonina digestível:lisina digestível de 0,75 foi a que produziu menor atividade para ambas as enzimas no soro, sendo a dose recomendada. Ainda mais que para a AST no fígado, esta enzima apresentou maior atividade nesta mesma relação apontando um ajuste metabólico dos aminoácidos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKIBA, Y.; MATDUMOTO, T. Effects of several types of dietary fibers on lipid content in liver and plasma, nutrient retentions and plasma transaminase activities in force-fed growing chicks. **The Journal of Nutrition**. v.110, p.1112-1121, 1980.
- ALONSO-ALVAREZ, C.; PÉREZ, C.; VELANDO, A. Effects of acute exposure to heavy fuel oil from the *Prestige* spill on a seabird. **Aquatic Toxicology**. v.84, p.103-110, 2007.
- BERRES, J.; VIEIRA, S.L.; CONEGLIAN, J.L.B.; OLMOS, A.R.; FREITAS, D.M.; BORTOLONI, T.C.K.; SILVA, G.X. Respostas de frangos de corte a aumentos graduais na relação entre treonina e lisina. **Ciência Rural**. v.37, n.2, p.510-517, 2007.
- BORSA, A.; KOHAYAGAWA, A.; BORETTI, L.P.; SAITTO, M.E.; KUIBIDA, K. Níveis séricos de enzimas de função hepática em frangos de corte de criação industrial clinicamente saudáveis. Comunicação. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.58, n.4, p.675-677, 2006.
- BOVERA, F.; MONIELLO, G.; De RIU, N.; Di MEO, C.; PINNA, W.; NIZZA, A. Effect of diet on the metabolic profile os ostriches (*Struthio camelus* var. *domesticus*). **Tropical Animal Health Production**. v.39, p.265-270, 2007.
- BROOKS, S.P.J.; LAMPI, B.J. The effect of changing dietary fat and carbohydrate on the enzyme of amino acid metabolism. **Nutritional Biochemistry - Research Communications**. v.6, p.414-421, 1995.
- BUSH, R.; MARQUARDT, R.R. Effects of age, sex and starvation on the turnover of plasma, liver and breast muscle proteins in the Japanese quail. **The Journal of Nutrition**. v.108, p.296-300, 1978.
- CORZO, A.; DOZIE III, W.A.; KIDD, M.T. Valine nutrient recommendations for Ross x Ross 308 broilers. **Poultry Science**. v.87, p.335-338, 2008.
- DAVIS, A.T.; AUSTIC, R.E. Threonine inbalance and threonine requirement of the chicken. **The Journal of Nutrition**. v.112, p.2170-2176, 1982.
- FAIRBROTHER, A.; CRAIG, M.A.; WALKER, K.; LOUGHLIN, D. Changes in Mallard (*Anas platyrhynchos*) serum chemistry due to age, sex, and reproductive condition. **Journal of Wildlife Diseases**. v.21, n.1, p.67-77, 1990.
- HARR, K.E. Clinical chemistry of companion avian species: A review. **Veterinary Clinical Pathology**. v.31, n.3, p.140-151, 2002.
- JURÁNI, M.; VÝBOH, P.; ZEMAN, M.; LAMOŠOVÁ, D.; KOŠT'ÁL, L.; BLAŽIČEK, P. Post-hatching dynamics of plasma biochemistry in free-living

- European starling (*Sturnus vulgaris*). **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part A, v.138, p.89-95, 2004.
- KIDD, M.T.; GERARD, P.D.; HEGER, J.; KERR, B.J.; ROWE, D.; SISTANI, K.; BURNHAM, D.J. Threonine and crude protein responses in broiler chicks. **Animal Feed Science and Technology**. v.94, p.57-64, 2001.
- KIDD, M.T.; KERR, B.J. L-threonine for poultry: a review. **Journal of Applied Poultry Research**. v.5, p.358-367, 1996.
- LIMA, A. O., SOARES, J. B., GRECO, J. B., GALIZZI, J., CANÇADO, J. R. **Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, 850p.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDAL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**. v.193, p.265-275, 1951.
- MALHEIROS, R.D.; MORAES, V.M.B.; COLLINS, A.; DECUPYERE, E.; BUYSE, J. Free diet selection by broilers as influenced by dietary macronutrient ratio, and corticosterone supplementation. 1. Diet selection, organ weights, and plasma metabolites. **Journal of Poultry Science**. v.82, p.123-131, 2003.
- MOSSAB, A.; LESSIRE, M.; GUILLAUMIN, S.; KOUBA, M.; MOUROT, J.; PEINIAU, P.; HERMIER, D. Effect of dietary fats on hepatic lipid metabolism in the growing turkey. **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part B. v.132, p.473-483, 2002.
- National Research Council - NRC. **Nutrient requirements of poultry**. 9.ed. Washington, D.C.: National Academy of Sciences, 1994. 155p
- PEREIRA, C. A. **Exigência nutricional de cálcio para codornas japonesas durante o pico de postura**. Viçosa: UFV, 60p. Dissertação (Mestrado em Nutrição de Monogástricos) – Universidade Federal de Viçosa, 2004.
- PINTO, R.; DONZELE, J. L.; FERREIRA, A. S.; ALBINO, L. F. T.; SOARES, R. T. R. N.; SILVA, M. A.; PEREIRA, T. A. Exigência de metionina mais cistina para codornas japonesas em postura. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.32, n. 5, p.1182-1189, 2003.
- RAJMAN, M.; JURÁNI, M.; LAMOŠOVÁ, D.; MÁČAJOVÁ, M. SEDLAKOVA, M; KOŠT'ÁL, L.; JEŽOVÁ, D; VÝBOH, P. The effects of feed restriction on plasma biochemistry in growing meat type chickens (*Gallus gallus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**. Part A, v.145, p.363-371, 2006.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; FERREIRA, A.S.; OLIVEIRA, R.F.M.; LOPES, D.C. **Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos. Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais**. Viçosa: Editora UFV, 2000, 141p.

- SCHMIDT, E.M.S.; PAULILO, A.C.; SANTIN, E.; DITTRICH, R.L.; OLIVEIRA, E.G. Hematological and serum chemistry values for the ring-necked pheasant (*Phasianus colchicus*): Variation with sex and age. **International Journal of Poultry Science**. v.6, n.2, p.137-139, 2007.
- SCHOLTZ, N.; HALLE, I.; FLACHOWSKY, G.; SAUERWIEN, H. Serum chemistry reference values in adult Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) including sex-related differences. **Journal of Poultry Science**. v.88, p.1186-1190, 2009.
- SURYAWAN, A.; O'CONNOR, P.M.J.; BUSH, J.A.; NGUYEN, H.V.; DAVIS, T.A. Differential regulation of protein synthesis by amino acids and insulin in peripheral and visceral tissues of neonatal pigs. **Amino Acids**. v.37, p.97-104, 2009.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA (UFV). S. A. E. G. (Sistema de análises estatísticas e genéticas), Viçosa: MG, 2000 (8.0).
- WANG, X.; QIAO, S.; YIN, Y.; YUE, L.; WANG, Z.; WU, G. A deficiency or excess of dietary threonine reduces protein synthesis in jejunum and skeletal muscle of young pigs. **The Journal of Nutrition – Nutrient Requirements and Optimal Nutrition**. v.137, p.1442-1446, 2007.

ADENDO

Característica (biometria)	Equação de regressão	R²	CV %
Peso vivo (g)	$Y = -101,026 - 24,5833T + 7,8074P - 0,0518P^2$	77,59	5,99
Moela (g)	$Y = 11,2144 - 30,8116T + 20,5954T^2 + 0,0961P - 0,0007P^2$	85,75	13,12
Pâncreas (g)	$Y = -0,6134 + 0,0361P - 0,0002P^2$	87,50	11,15
Quimo (g)	$Y = -4,1255 + 3,9712T + 0,0277P$	57,82	35,58
Coração (g)	$Y = 8,7950 - 22,3143T + 14,5017T^2 + 0,0296P - 0,0002P^2$	81,87	13,69

Característica (%ptn)	Equação de regressão	R²	CV %
% de prot no pâncreas <i>in natura</i>	$Y = -8,2591 + 9,4892T + 0,5832P - 0,0044P^2$	85,39	16,66

Característica (amilase)	Equação de regressão	R²	CV %
At. por peso corporal (UI de amilase no pâncreas/g de peso corporal)	$Y = 3,8832 - 8,4012T + 0,4111P - 0,0033P^2$	52,95	29,91
U amilase/pâncreas <i>in natura</i> (g)	$Y = -7878,06 - 6841,54T + 604,9207 - 4,5339P^2$	79,19	41,64
At. específica amilase no pâncreas	$Y = 464,657 - 808,115T + 449,640T^2 - 0,4243P$	59,49	39,76
U amilase/ mg de pâncreas <i>in natura</i>	$Y = -0,4420 - 12,4012T + 0,7426P - 0,0059P^2$	70,00	32,91
At. por peso corporal (UI de amilase no quimo/g de peso corporal)	$Y = -97,6017 + 268,566T - 179,288T^2 - 0,0006P$	74,53	65,89
U amilase/alíquota (quimo total) (g)	$Y = -14529,5 + 39948,4T - 26681,3T^2 + 0,2867P$	65,31	55,55
U amilase/ mg de quimo	$Y = -25,3427 + 71,7645T - 48,3452T^2 - 0,0073P$	72,65	46,75
At. específica amilase quimo	$Y = -386,157 + 1088,10T - 724,732T^2 - 0,1407P$	86,52	93,38

Característica (lipase)	Equação de regressão	R²	CV %
UI lipase/ mg de pâncreas <i>in natura</i>	$Y = 9560,27 - 2146,27T - 177,857P + 1,0443P^2$	73,00	78,99
At. por peso corporal (UI de lipase no pâncreas/g de peso corporal)	$Y = 28931,1 - 6394,16T - 536,680P + 3,1513P^2$	71,23	80,61
Atividade específica lipase no pâncreas (UI lipase/ mg de proteína no pâncreas <i>in natura</i>)	$Y = 69845,6 - 16326,8T - 1334,05P + 8,1728P^2$	71,65	70,11
Atividade específica de lipase no quimo (UI/mg proteína)	$Y = -34397,9 + 92551,3T - 61900,1T^2 + 12,2551P$	69,13	48,75
At. de lipase por miligrama de quimo (UI/mg quimo)	$Y = -2210,87 + 6009,44T - 4031,59T^2 + 0,5669P$	51,96	43,57
At. de lipase por peso corporal (UI de lipase no quimo/g de peso corporal)	$Y = -1219,0 + 32,513T - 21687,5T^2 + 4,9099P$	77,32	61,49

Característica (sangue)	Equação de regressão	R²	CV %
--------------------------------	-----------------------------	----------------------	-------------

TGO soro (UI/mL)	$Y=2350,12-5755,55T+3960,88T^2+2,8518P$	90,62	5,74
TGP soro (UI/mL)	$Y=231,990-655,637T+441,415T^2+354,845P$	93,60	16,34
Albumina sangue (g/dL) Alb = Aa - FC	$Y=1,7571+0,1251T+0,0007P$	63,72	10,10
Globulina soro (g/dL) Glb=ptn total-Alb	$Y=2,1365-3,3357T+0,1296P-0,0010P^2$	61,33	27,61
Relação Alb/Glb no soro	$Y=1,0084+1,0244T-0,0385P+0,0003P^2$	49,27	35,22
Ptn soro em g/dL	$Y=3,9379-3,2106T+0,1290P-0,0010P^2$	61,98	19,02

Característica (fígado)	Equação de regressão	R²	CV %
Peso vivo (g)	$Y=-101,026-24,5833T+7,8074P-0,0518P^2$	77,59	5,99
Fígado (g)	$Y=-7,2817-1,6963T+0,3502P-0,0023P^2$	81,47	17,54
mg prot./mg de fígado	$Y=3,4268+10,1225T-6,7049T^2-0,0017P$	52,24	9,85
UI/mg prot. Do fígado	$Y=341,195-21,0986T-7,4566P+0,0562P^2$	85,34	9,11
UI/peso do fígado total (mg)	$Y=-1286,51+3600,69T-2417,08T^2+0,6942P$	77,70	19,60
UI de TGO no fígado/g peso vivo	$Y=572,242-4,9358T-13,9388P+0,0960P^2$	79,95	14,52
UI/mg prot. do fígado	$Y=3,4389-0,8804T+0,0076P$	78,18	21,40
UI/peso do fígado total (mg)	$Y=3,5484-1,4573T+0,0091P$	75,89	31,97
UI de TGP no fígado/g peso vivo	$Y=-6,6554+48,6673T-32,6291T^2-0,2216P+0,0014P^2$	67,35	25,34