Efecto del nivel de lisina digestible y del perfil ideal de aminoácidos sobre el requerimiento de lisina en gallinas Hy-Line W-36 al final del primer periodo de postura

Effect of the level of digestible lysine and the ideal amino acid profile on the lysine requirement in Hy-Line W-36 hens at the end of the first laying cycle

María de Lourdes Ángeles* Sergio Gómez Rosales*

Abstract

The objective of the study was to evaluate the effect of digestible lysine level and the addition of crystalline amino acids, on productivity, nitrogen utilization and lysine requirement, using an empirical and a factorial approach in laying hens. Hy-Line W-36 layers from 60 to 65 weeks of age were used. In Exp. 1, four increasing levels of lysine were tested in diets based on sorghum and soybean paste: 0.40%, 0.53%, 0.66%, and 0.79%. There were 6 replicates per treatment with 2 hens in each. In Exp. 2, previously used diets containing 0.66% and 0.79% of lysine were tested and to both crystalline amino acids were added to match or surpass by 10% an ideal amino acid profile. There were 5 treatments with 6 replicates, with two hens in each. The experiments lasted for 21 days; in the last 5 days, nitrogen balance was carried out. In both experiments, productivity was increased (Exp. 1, $P < 0.01$; Exp. 2, $P < 0.05$) as the level of dietary lysine increased. In Exp. 1, the lysine requirement/g of egg mass decreased ($P < 0.01$) as the level of digestible lysine in the diet increased. In Exp. 2, the aminoacid profile did not affect any of the responses evaluated. In summary, in Hy-Line W-36 hens from 60 to 65 weeks of age the estimated requirement of digestible lysine/g of egg mass was 12.96 mg and this requirement was not affected by the ideal amino acid profile.

Key words: LAYER HENS, DIGESTIBLE LYSINE LEVELS, IDEAL AMINO ACID PROFILE, LYSINE REQUIREMENT.

Resumen

El objetivo fue evaluar la productividad, utilización de nitrógeno y requerimiento de lisina, mediante la combinación de un enfoque empírico y factorial, por efecto del nivel de lisina digestible y la adición de aminoácidos cristalinos en gallinas de postura. Se usaron gallinas Hy-Line W-36 de 60 a 65 semanas de edad. En el experimento 1 se evaluaron cuatro niveles crecientes de lisina en dietas basadas en sorgo y pasta de soya: 0.40%, 0.53%, 0.66% y 0.79%. Hubo seis repeticiones por tratamiento con dos gallinas por repetición. En el experimento 2 se evaluaron las dietas con 0.66% y 0.79% de lisina usadas previamente y se adicionaron con aminoácidos cristalinos para cubrir o exceder en 10% un perfil ideal de aminoácidos. Hubo cinco tratamientos con seis repeticiones, con dos gallinas por repetición. Los experimentos duraron 21 días; en los últimos cinco se realizó el balance de nitrógeno. En ambos experimentos, al aumentar el nivel de lisina digestible en la dieta, se incrementó la productividad (experimento 1, $P < 0.01$; experimento 2, $P < 0.05$). En el experimento 1 el requerimiento de lisina/g de masa de huevo ($P < 0.01$) disminuyó por cada incremento de lisina dietética. En el experimento 2, el perfil de aminoácidos no afectó ninguna de las variables evaluadas. En resumen, en gallinas Hy-Line W-36 de 60 a 65 semanas, el requerimiento estimado de lisina digestible/g de masa de huevo fue de 12.96 mg y este requerimiento no fue afectado por el perfil ideal de aminoácidos.

Palabras clave: GALLINAS DE POSTURA, NIVELES DE LISINA DIGESTIBLE, PERFIL IDEAL DE AMINOÁCIDOS, REQUERIMIENTO DE LISINA.

Recibido el 20 de agosto de 2004 y aceptado el 17 de febrero de 2005.

* Centro Nacional de Investigación en Fisiología Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Km 1, Carretera a Colón, 76280, Ajuchitlán, Colón, Querétaro, México, Tel 01 (419) 2920036. Correspondencia y separatas: gomez.sergio@inifap.gob.mx

Introduction

Diets are generally formulated to cover the physiological needs of a specific type of poultry, according to age, productive potential and genetic line. This implies the fact that during the preparation of rations, the final objective of covering exactly the nutriment requirements is met. Nevertheless, there has been progress made to the point where knowledge on physiological needs is such that the estimates for certain lines are not acceptable for all the lines within a class of hens that are raised under a diverse range of environmental characteristics. An estimated requirement under those conditions may not only be inefficient in relation to the use of nutrients, in many cases it may not allow the expression of the real genetic potential of the poultry.[1-5]

Within the same line of hens, the main factors that may affect the nutrimental requirements are physiology, nutrition and environment. Among the first ones, age and weight of hens is important, since once the laying peak is reached, egg production starts to decline slowly, while body weight increases and this changes the proportion of amino acids required for production and maintenance for the rest of their productive life.[2-4] The level of feed consumption, energy and protein diet levels, as well as the quality of the ingredients and the type of formula are the nutrimental factors that stand out amongst others.[2,6,7] The environmental factors, especially the changes in temperature, may affect the consumption of feed and the metabolic state of the birds, favoring survival functions to maintain body temperature within physiological limits,[5,6,8] reducing productive functions.

Another important source of variation in the establishment of requirements is the experimental conditions that prevail during each study, where the factors mentioned above, the methods used to establish them and the response variables are included.[3,4,6] Traditionally, the methods used to establish amino acid requirements are classified under two categories: the empirical and the factorial ones. Yet, in both cases, limitations have been found so that at this time there is still great controversy in relation to the validity of both points of view. It is considered that, in the future, factorial methods shall have greater preponderance as a means of establishing the requirements in a more flexible and economical manner, as well as being a mechanism to increment knowledge in this area.[6,9] Nevertheless, it is recognized that there is a great interdependence between the empirical and factorial methods, since the first ones have greatly contributed to the understanding of the factors that affect the responses to amino acid supplementation.

Introducción

Las dietas generalmente se formulan para cubrir las necesidades fisiológicas de determinada clase de aves de acuerdo con la edad, potencial productivo y línea genética, lo que no implica que en la preparación de raciones se haya alcanzado el objetivo final de cubrir exactamente el requerimiento de nutrimentos. Sin embargo, se ha progresado al punto donde se sabe que los cálculos de requerimientos disponibles no pueden ser aceptados para todas las líneas dentro de una clase de gallinas criadas bajo un rango diverso de características ambientales. Un requerimiento estimado bajo esas condiciones no sólo es ineficiente en relación con la utilización de nutrimentos, sino que en muchos casos no permite que se exprese el potencial genético real de las aves.[1-5]

Dentro de una misma línea de gallinas, los principales factores que pueden afectar los requerimientos nutrimentales son fisiológicos, de nutrición y ambientales. Entre los primeros destacan la edad y el peso de las gallinas, ya que una vez alcanzado el pico de postura, la producción de huevo empieza a declinar paulatinamente, mientras que el peso corporal se incrementa, lo que cambia la proporción de los aminoácidos requeridos para producción y mantenimiento a través de la vida productiva.[2-4] De los factores nutrimentales destacan el nivel de consumo de alimento, los niveles dietéticos de energía y proteína, la calidad de los ingredientes y el tipo de fórmula, entre otros.[2,6,7] Los factores ambientales, en especial los cambios de temperatura, pueden afectar el consumo de alimento y el estado metabólico de las aves, favoreciendo las funciones de sobrevivencia para mantener la temperatura corporal dentro de los límites fisiológicos,[5,6,8] reduciendo las funciones productivas.

Otra fuente importante de variación en el establecimiento de requerimientos son las condiciones experimentales que prevalecen en cada estudio, dentro de las que se incluyen los factores mencionados arriba y los métodos para establecer los requerimientos, incluyendo en éstos, las variables de respuesta usadas para definirlos.[3,4,6] Tradicionalmente, los métodos usados para establecer el requerimiento de aminoácidos se encuentran dentro de dos categorías: los empíricos y los factoriales; sin embargo, en los dos casos se han identificado limitaciones, de manera que actualmente existe todavía gran controversia en cuanto a la validez de los dos enfoques. Se considera que en el futuro los métodos factoriales tendrán mayor preponderancia como un medio para establecer los requerimientos de manera más flexible y económica, y como un mecanismo para incrementar

In the first part of this work, different variables were generated under an empirical point of view and after that, some of the variables were used to generate the necessary elements to establish a requirement, following the factorial point of view, based on data published specifically about the lysine content in egg and body protein and the maintenance needs.[3,4] Once the requirement is obtained, in the second part of this work the suitability of the diets used in the first phase was assessed, in order to verify the validity of the inferences that were made. In theory, these diets had a concentration of amino acids below the recommended ideal profile.[1,10] Therefore, the objectives of this work were: *a)* evaluate productivity, use of nitrogen and lysine according to the levels of digestible lysine in the diet, and *b)* evaluate productivity and use of nitrogen correlated to the addition of crystalline amino acids to cover or surpass an ideal profile of amino acids.

Material and methods

Experiment 1

Forty-eight Hy-Line W-36 hens, 60 weeks old, were randomized to four diets (Table 1): 1) Diet with 12% of CP and 0.40% digestible lysine, 2) diet with 14% CP and 0.53% digestible lysine, 3) diet with 16% CP and 0.66% digestible lysine, and 4) diet with 18% CP and 0.79% digestible lysine. The hens were lodged in cages with cup drinkers and trays for the total collection of excrement. Six repetitions were made with two hens in each repetition.

Experiment 2

This experiment was designed because the diets with 0.66 and 0.79% lysine used in experiment 1 were limiting or deficient in added amino acids according to the ideal suggested profiles.[1,10] Sixty Hy-Line W-36 hens, 65 weeks of age were randomized to five diets (Table 2): 1) Diet with 16% CP and 0.66% digestible lysine, 2) same as the first with 10% added of methionine, cystine, threonine, tryptophan, arginine, isoleucine and valine above the recommended profile, 3) diet with 18% CP and 0.79% digestible lysine, 4) same as 3 plus the addition of threonine, tryptophan, arginine, isoleucine and valine until the recommended profile is covered exactly, and 5) same as 3 plus 10% methionine, cystine, threonine, tryptophan, arginine, isoleucine and valine above the recommended profile. In diets 2, 4 and 5 the proportion of crystalline amino acids added was adjusted taking as a reference the concentration of lysine in the diet, as is suggested in the available ideal profiles. The hens were lodged in the same cages used for experiment 1. There were 6

el conocimiento en esta área.[6,9] Sin embargo, se reconoce que existe gran interdependencia entre los métodos empíricos y factoriales, ya que los primeros han contribuido de manera importante para entender los factores que afectan las respuestas a la suplementación de aminoácidos.

En la primera parte del presente trabajo se generaron diferentes variables bajo un enfoque empírico, y, posteriormente, algunas de estas variables se usaron para generar los elementos necesarios para establecer un requerimiento siguiendo un enfoque factorial con base en datos publicados, específicamente el contenido de lisina en huevo, proteína corporal y para mantenimiento.[3,4] Una vez obtenido el requerimiento, en la segunda parte del trabajo se examinó la idoneidad de las dietas usadas en la primera fase, que, en teoría, presentaron una concentración de aminoácidos por debajo del perfil ideal recomendado,[1,10] para constatar la validez de las inferencias obtenidas. Por tanto, los objetivos del presente trabajo fueron: *a)* evaluar la productividad, utilización de nitrógeno y lisina por efecto del incremento en los niveles de lisina digestible en la dieta, y *b)* evaluar la productividad y utilización de nitrógeno por efecto de la adición de aminoácidos cristalinos para cubrir o exceder un perfil ideal de aminoácidos.

Material y métodos

Experimento 1

Se usaron 48 gallinas Hy-Line W-36 de 60 semanas de edad, que fueron asignadas aleatoriamente a cuatro dietas (Cuadro 1): 1) Dieta con 12% de PC y 0.40% de lisina digestible, 2) dieta con 14% de PC y 0.53% de lisina digestible, 3) dieta con 16% de PC y 0.66% de lisina digestible, y 4) dieta con 18% de PC y 0.79% de lisina digestible. Las gallinas fueron alojadas en jaulas provistas con bebedero de copa y charolas para la recolección total de excretas. Se contó con seis repeticiones por tratamiento con dos gallinas en cada repetición.

Experimento 2

Este experimento se diseñó debido a que las dietas con 0.66 y 0.79% de lisina usadas en el experimento 1 fueron limitantes o deficientes en los aminoácidos agregados de acuerdo con los perfiles ideales sugeridos.[1,10] Se usaron 60 gallinas Hy-Line W-36 de 65 semanas de edad, que fueron asignadas aleatoriamente a cinco dietas (Cuadro 2): 1) Dieta con 16% de PC y 0.66% de lisina digestible, 2) igual que 1 más 10% de metionina, cistina, treonina, triptofano, arginina,

Cuadro 1

FORMULACIÓN Y CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS EN LAS DIETAS DE LOS EXPERIMENTOS 1 Y 2

FORMULATION AND CONTENT OF AMINO ACIDS IN THE DIETS OF EXPERIMENTS 1 AND 2

	Experiment 1				*Experiment 2*[1]				
	Lysine content in the diet, %								
Ingredients	0.40	0.53	0.66	0.79	1	2	3	4	5
Sorghum meal	77.47	71.67	65.64	59.59	65.64	65.29	59.59	59.35	58.96
Soy paste	10.62	15.78	20.98	26.19	20.98	20.98	26.19	26.19	26.19
Calcium carbonate	8.61	8.61	8.60	8.60	8.60	8.60	8.60	8.60	8.60
Calcium Phosphate	2.03	1.97	1.92	1.87	1.92	1.92	1.87	1.87	1.87
Soy oil	0.56	1.18	1.98	2.78	1.98	1.98	2.78	2.78	2.78
Salt	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38
Vitamins[2]	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Minerals[3]	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Sodium bicarbonate	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Antioxidant	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Threonine			0.02	0.05	0.02	0.05	0.05	0.06	0.10
Methionine	0.04	0.08	0.12	0.16	0.12	0.16	0.16	0.16	0.20
Cystine		0.04	0.07	0.09	0.07	0.09	0.09	0.09	0.14
Tryptophan						0.01			0.02
Arginine						0.10		0.04	0.14
Isoleucine						0.14		0.10	0.20
Valine						0.10		0.10	0.18
Nutriment content									
ME, kcal/kg[4]	2 850	2 850	2 850	2 850	2 850	2 850	2 850	2 850	2 850
CP, %[5]	12.12	14.40	16.55	18.35	15.95	15.89	18.15	18.00	18.69
Ca, %[4]	3.85	3.85	3.85	3.85	3.85	3.85	3.85	3.85	3.85
Available P, %[4]	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45

[1] 1) Diet with 16% CP and 0.66% digestible lysine, 2) Same as 1 plus 10% of methionine, cystine, threonine, tryptophan, arginine, isoleucine and valine surpassing the recommended profile, 3) Diet with 18% CP and 0.79% digestible lysine, 4) same as 3 plus the addition of threonine, tryptophan, arginine, isoleucine and valine until the recommended profile was exactly covered, and 5) Same as 3 plus 10% of methionine, cystine, threonine, tryptophan, arginine, isoleucine and valine surpassing the recommended profile.

[2] Each kg provided: 7 700 IU of vitamin A; 3 000 IUP of vitamin D_3; 6.6 IU of vitamin E; 2.0 mg of vitamin K; 4.4 mg of riboflavin 22 mg of niacin; 5.5 mg de pantothenic acid; 300 mg of choline; 0.11 g of folic acid; 8.8 mg of vitamin B_{12}.

[3] Each kg provided: 100 mg of Mn; 100 mg of Zn; 33 mg of Fe; 9 mg of Cu; .9 mg of I; .3 mg of Se.

[4] Estimated.

[5] Analyzed.

replicates per treatment with 2 hens in each replicate.

In both experiments, the diets were prepared with a concentration of 2 850 kcal ME/kg, 3.85% of Ca and 0.45% available phosphorus. Before preparing them, the content of CP in sorghum and soy was established in order to adjust the amino acid concentration. An estimate of amino acids profile, as seen in the diets used for experiment 1, and the ideal proposed estimates for the diets for this type of hens [1,10] for comparison are shown in Table 2.

The field phase of each experiment lasted 21 days; the first 14 were for adaptation to the cages and diet. During this time the feed consumption was adjusted daily to insure that feed consumption during the

isoleucina y valina por arriba del perfil recomendado, 3) dieta con 18% de PC y 0.79% de lisina digestible, 4) igual que 3 más la adición de treonina, triptofano, arginina, isoleucina y valina hasta cubrir exactamente el perfil recomendado, y 5) igual que 3 más 10% de metionina, cistina, treonina, triptofano, arginina, isoleucina y valina por arriba del perfil recomendado. En las dietas 2, 4 y 5 las proporciones de aminoácidos cristalinos agregados se ajustaron tomando como referencia la concentración de lisina en la dieta, como se sugiere en los perfiles ideales disponibles. Las gallinas fueron alojadas en las mismas jaulas usadas en el experimento 1. Se contó con seis repeticiones por tratamiento con dos gallinas en cada repetición.

collection period was similar between treatments to avoid confusing effects in the response variables due to differences in consumption. During the first 14 adaptation days, the minimum feed consumption was established at 95 g per hen, therefore, during the seven collection days, consumption was set at 90 g per hen (in order to avoid feed rejections or selection). Total excrement was collected during the last five days of the test; collection was performed with 24-hour intervals. At the beginning and end of the collection, ferric oxide was added to the offered feed in order to mark the beginning and the end of the collection period. All the previous procedures were performed according to the recommended European reference method[11] for the detection of metabolizable energy in adult roosters.

During collection, feathers and dust were removed from the excrement and at the end it was dried in a stove (at 55ºC), grounded (with a 1 mm sieve), and the feather residues were eliminated by passing the sample through a plastic mesh; after that a sub-sample was taken, placed in a plastic bag and stored in a refrigerator for later analysis. Egg production was recorded daily. All the eggs were collected and weighed during the last five days of the test. After that, the egg was beaten whole (including the shell) in a blender; a sample was taken and frozen. The hens were weighed at the beginning and at the end of the test. At the beginning of experiment 1, six hens were sacrificed to determine the concentration of initial nitrogen and at the end one hen, of each repetition, was sacrificed (total of six hens per treatment) to determine the concentration of final nitrogen and by difference, estimate gain or loss of body nitrogen. After the sacrifice of the hens, the feathers were

En ambos experimentos las dietas se prepararon con una concentración de 2 850 kcal de EM/kg, 3.85% de Ca y 0.45% de fósforo disponible. Antes de prepararlas se determinó el contenido de PC en el sorgo y la soya para ajustar la concentración de aminoácidos. En el Cuadro 2 se presenta el perfil estimado de aminoácidos en las dietas usadas en el experimento 1 y se presentan los perfiles ideales de aminoácidos propuestos para este tipo de gallinas[1,10] con fines comparativos.

La fase de campo de cada experimento tuvo una duración de 21 días; los primeros 14 días fueron de adaptación a las jaulas y la dieta. Durante este tiempo se ajustó diariamente el consumo de alimento para asegurar que durante el periodo de recolección el consumo de alimento fuera similar entre tratamientos, y al final evitar efectos confundidos en las variables de respuesta debido a diferencias en consumos. Durante los primeros 14 días de adaptación, el consumo mínimo de alimento observado fue de 95 g por gallina, por lo que durante los siete días de recolección, el consumo se fijó en 90 g por gallina (esto fue para evitar rechazos o selección del alimento). Las excretas se recolectaron totalmente durante los últimos cinco días de la prueba; la recolección se realizó con intervalos de 24 h. Al inicio y al final del periodo de recolección se agregó óxido férrico al alimento ofrecido para marcar el inicio y final del periodo de recolección. Todos los procedimientos anteriores se realizaron siguiendo las recomendaciones del método de referencia europeo[11] para la determinación de energía metabolizable en gallos adultos.

Durante la recolección se retiraron las plumas y el polvo de las excretas, y, al final, las excretas se secaron en una estufa (a 55ºC), se molieron (con criba de

Cuadro 2

PERFIL DE AMINOÁCIDOS CALCULADO EN LAS DIETAS DEL EXPERIMENTO 1 Y PERFILES IDEALES PROPUESTOS

ESTIMATED AMINO ACID PROFILE IN THE DIETS OF EXPERIMENT 1 AND PROPOSED IDEAL PROFILES

	Lysine amount/Amino acid profile in the diets				*Proposed profiles*	
	0.40	*0.53*	*0.66*	*0.79*	*Coon and Zhang[1] 1998*	*NRC[10] 1994*
Lysine	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Threonine	0.78	0.72	0.72	0.73	0.73	0.68
Methionine	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.43
Tryptophan	0.28	0.25	0.24	0.23	0.20	0.23
Arginine	1.35	1.30	1.29	1.27	1.30	1.01
Isoleucine	1.08	0.96	0.89	0.85	0.86	0.94
Valine	1.25	1.08	0.98	0.91	1.02	1.01

removed and the bodies were ground and passed three timed through a 1 mm sieve. The complete ground body of each hen was homogenized by hand during several minutes; a sample of each one was taken and frozen.

The nitrogen content of the diets, excrement, eggs and bodies of the hens was analyzed in the laboratory.[12] Also, production variables and nitrogen balance were analyzed, the total lysine requirement and the lysine requirement per gram of egg mass produced were estimated, taking into consideration the following variables: the consumption of lysine, based on the estimated digestible lysine contained in the diets. The excretion of lysine in eggs, the lysine requirement for maintenance and the lysine requirement for gain or loss of protein were estimated using the following values: 423 mg of lysine for each gram of egg nitrogen, 73 mg of lysine/kg of body weight and 468.75 mg of lysine per gram of body nitrogen, in agreement with the previously published data.[3,4,13]

In both experiments, the results were subjected to a multivariate variance analysis using the main components procedure with the help of a SAS statistical package.[14] This analysis was carried out in order to identify the variables that were more related amongst them and classify them by groups or components, improve the precision of the analysis and facilitate the interpretation of the results. In experiment 1, once the main components were obtained, the variables that explain the variance of each one of the components were identified and a regression analysis was performed (lineal and quadratic) in order to predict in a more precise context the most significant response variable for this study. In experiment 2, after having obtained the main components, the means of the variables grouped within these components, they were compared using the non-orthogonal contrast method.[15] The four comparisons that were performed were: contrast 1, diets 1 and 2 *vs* diets 3, 4 and 5; contrast 2, diet 1 *vs* 2; contrast 3, diet 3 *vs* 4; and, contrast 5, diet 3 *vs* 5. It must be said that the variables, feed consumption, nitrogen consumption, and lysine consumption were not statistically analyzed, since the consumption was set at 90 and 80 g/bird, in experiments 1 and 2, respectively.

Results

Experiment 1

Five main components were identified that explained 87.23% of the total variance of the experiment (Table 3). Of the original 21 variables that were analyzed,

1 mm), y se retiraron los restos de plumas haciendo pasar la muestra a través de una malla de plástico; posteriormente se tomó una submuestra, se colocó en bolsa de plástico y se almacenó en un refrigerador para su análisis. La producción de huevo se registró diariamente. Todo el huevo se recolectó y se pesó durante los últimos cinco días de la prueba. Posteriormente, el huevo se batió entero (incluyendo el cascarón) en una licuadora, se tomó una muestra y se congeló. Las gallinas se pesaron al principio y al final de la prueba. Al inicio del experimento 1 se sacrificaron seis gallinas para determinar la concentración de nitrógeno inicial, y al final se sacrificó una gallina de cada repetición (en total seis gallinas por tratamiento) para determinar la concentración de nitrógeno final, y, por diferencia, calcular la ganancia o pérdida de nitrógeno corporal. Después del sacrificio de las gallinas, se removieron las plumas y los cuerpos se molieron pasándolos tres veces a través de una criba de 1 mm. El cuerpo molido completo de cada gallina se homogenizó a mano durante varios minutos; se tomó una muestra de cada uno y se congeló.

En el laboratorio se analizó el contenido de nitrógeno de las dietas, las excretas, el huevo y el cuerpo de las gallinas.[12] Además de analizar las variables de producción y balance de nitrógeno, se estimó el requerimiento total de lisina y el requerimiento de lisina por gramo de masa de huevo producida, tomando en consideración las siguientes variables: el consumo de lisina con base en el contenido calculado de lisina digestible de las dietas. La excreción de lisina en huevo, el requerimiento de lisina para mantenimiento y el requerimiento de lisina para ganancia o pérdida de proteína se estimaron usando los valores: 423 mg de lisina por cada gramo de nitrógeno en huevo, 73 mg de lisina/kg de peso corporal y 468.75 mg de lisina por gramo de nitrógeno corporal, de acuerdo con los datos publicados previamente.[3,4,13]

En ambos experimentos, los resultados fueron sometidos a un análisis multivariado usando el procedimiento de componentes principales, con la ayuda del paquete estadístico SAS.[14] Este análisis se realizó con la intención de identificar las variables con una mayor relación entre sí y clasificarlas por grupos o componentes, mejorar la precisión del análisis y facilitar su interpretación. En el experimento 1, una vez obtenidos los componentes principales, se identificaron las variables que explican la varianza de cada uno de los componentes y se realizó un análisis de regresión (lineal y cuadrático) con el objetivo de predecir en un contexto más preciso las variables de respuesta más significativas del estudio. En el experimento 2, después de obtener los componentes

only 14 remained within the five components that were obtained. In component 1, productivity, the variables with more relationship with productive behavior that were put together were: egg production, egg mass and feed efficiency. In component 2, body changes, the variables with more relationship amongst them were final weight, change in weight, and change in body nitrogen that reflected the differences between the initial body status and the modification of the body reserves at the end of the experiment. Component 3, lysine requirements, was the most significant of this work; the variables that showed greater relationship within this component were lysine requirement for maintenance, body lysine loss, total lysine requirement and lysine/g per egg mass requirement in each one of the physiological components that are more important for laying hens: maintenance, gain or loss of tissues and egg production. Component 4, use of nitrogen,

principales, las medias de las variables agrupadas dentro de estos componentes se compararon usando el método de contrastes no ortogonales.[15] Las cuatro comparaciones que se realizaron fueron: contraste 1, las dietas 1 y 2 *vs* las dietas 3, 4 y 5; contraste 2, dieta 1 *vs* 2; contraste 3, la dieta 3 *vs* 4; y, contraste 5, dieta 3 *vs* 5. Cabe destacar que las variables, consumo de alimento, consumo de nitrógeno y consumo de lisina no fueron analizadas estadísticamente, ya que el consumo se fijó en 90 y 80 g/ave, en los experimentos 1 y 2, respectivamente.

Resultados

Experimento 1

Se identificaron cinco componentes principales, los cuales explicaron 87.23% de la varianza total

Cuadro 3

MATRIZ DE COMPONENTES PRINCIPALES, VARIANZA EXPLICADA Y VALORES FACTORIALES DE CADA VARIABLE EN EL EXPERIMENTO 1

MATRIX OF MAIN COMPONENTS, EXPLAINED VARIANCE AND FACTORIAL VALUES OF EACH VARIABLE IN EXPERIMENT 1

Main components	*Own values*	*Variance (%)*	*Accumulated (%)*
1	8.5028	40.49	40.49
2	3.7013	17.63	58.11
3	2.9086	13.85	71.97
4	1.8630	8.87	80.84
5	1.3426	6.39	87.23

Matrix of Components	Components 1	2	3	4	5
Component 1: Productivity					
Egg production, %	30.46				
Egg mass, g	32.76				
Feed efficiency	32.59				
Component 2: Body changes					
Final weight, kg		27.53			
Change in weight, g		30.75			
Change of body nitrogen, g		28.73			
Component 3: Lysine requirement					
Lysine requirement for maintenance, mg/d			40.06		
Loss of body lysine, mg/d			30.86		
Total lysine requirement, mg/d			17.03		
Lysine requirement /g egg mass, mg			21.21		
Component 4: Use of nitrogen					
Retained nitrogen, g				33.58	
Retained nitrogen /consumed nitrogen, %				34.38	
Component 5: Body nitrogen					
Initial body nitrogen, g					47.61
Final body nitrogen, g					37.68

Cuadro 4

MEDIAS DE MÍNIMOS CUADRADOS Y ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA DE LAS VARIABLES DE LOS COMPONENTES IDENTIFICADOS EN EL EXPERIMENTO 1

LEAST SQUARE MEANS AND STANDARD ERROR OF THE MEAN OF COMPONENT VARIABLES IDENTIFIED IN EXPERIMENT 1

	Lysine level in diet, %				
	0.40	*0.53*	*0.66*	*0.79*	*SEM*[a]
Component 1: Productivity					
Egg production, %	59.03	67.22	71.53	76.53	2.704
Egg mass, g	33.52	39.21	41.12	44.88	1.435
Feed efficiency	0.37	0.44	0.46	0.50	0.016
Component 2: Body changes					
Final weight, kg	1.40	1.42	1.48	1.47	0.042
Weight change, g	− 43.33	−36.67	−21.67	−20.83	12.643
Body nitrogen change, g	−1.85	−1.46	−0.53	−0.05	0.330
Component 3: Lysine requirement					
Maintenance lysine requirement, mg/d	115.93	117.21	120.62	120.31	3.093
Loss of body lysine, mg/d	30.97	24.44	8.87	0.84	5.154
Total lysine requirement, mg/d	476.65	511.05	520.61	533.68	14.228
Lysine requirement /g egg mass, mg	14.28	13.06	12.72	11.76	0.194
Component 4: Use of nitrogen					
Retained nitrogen, g	0.96	1.17	1.00	1.18	0.102
Retained nitrogen/consumed nitrogen, %	56.28	54.97	44.52	41.97	4.581
Component 5: Body nitrogen					
Initial body nitrogen, g	38.54	37.97	39.29	39.46	1.139
Final body nitrogen, g	36.69	36.51	38.76	39.41	1.120

[a] SEM = Standard Error of the Mean

reflected the efficiency of digestive or metabolic use of consumed nitrogen and it was represented by the variables, retained nitrogen, retained nitrogen/consumed nitrogen. Component 5, body nitrogen, indicated the status of nitrogen reserves at the beginning and at the end of the experiment.

Least square means and standard deviation of the variable means that integrate each one of the described components are found in Table 4. After performing the regression analysis in each of the cited response variables, the variables for egg mass, feed efficiency, body nitrogen change, body lysine loss, lysine/g requirement of egg mass, and retention nitrogen/consumed nitrogen showed the most

del experimento (Cuadro 3). De las 21 variables analizadas originalmente, solamente 14 quedaron incluidas dentro de los cinco componentes obtenidos. En el componente 1, productividad, se agruparon las variables con mayor relación con el comportamiento productivo: producción de huevo, masa de huevo y eficiencia alimentaria. En el componente 2, cambios corporales, las variables con mayor relación entre sí fueron peso final, cambio de peso y cambio de nitrógeno corporal, que reflejaron las diferencias entre el estado corporal inicial y las modificaciones en las reservas corporales al final del experimento. El componente 3, requerimientos de lisina, fue el más significativo del trabajo; las variables que mostraron

Cuadro 5

ECUACIONES DE REGRESIÓN, PROBABILIDADES DE F Y COEFICIENTES DE DETERMINACIÓN (R^2) OBTENIDOS EN EL EXPERIMENTO 1

REGRESSION EQUATIONS, PROBABILITIES OF F AND (R^2) DETERMINATION COEFFICIENTS OBTAINED IN EXPERIMENT 1

Response variable	*Regression equation*	*Probability of F*	R^2
Egg mass, g	y = 30.686 + 3.599x	0.01	0.44
Feed efficiency	y = 0.343 + 0.039x	0.01	0.43
Change of body nitrogen, g	y = −2.551 + 0.632x	0.01	0.43
Loss of body lysine, mg/d	y = 39.857 – 9.872x	0.01	0.43
Lysine requirement/g egg mass, mg	y = 14.800 – 0.723x	0.01	0.51
Retained nitrogen/ consumed nitrogen, %	y = 62.778 –5.337x	0.05	0.52

Cuadro 6

MATRIZ DE COMPONENTES PRINCIPALES, VARIANZA EXPLICADA Y VALORES FACTORIALES DE CADA VARIABLE EN EL EXPERIMENTO 2

MATRIX OF MAIN COMPONENTS, EXPLAINED VARIANCE AND FACTORIAL VALUES OF EACH VARIABLE IN EXPERIMENT 2

Main Components	*Own values*	*Variance (%)*	*Accumulated (%)*
1	5.0464	36.05	36.05
2	2.5707	18.36	54.41
3	2.0572	14.69	69.10
4	1.5677	11.20	80.30

Matrix of components	Components 1	2	3	4
Component 1: Productivity				
Egg production, %	36.61			
Egg mass, g	41.11			
Feed efficiency	40.91			
Component 2: Use of nitrogen				
Retained nitrogen, g		36.02		
Retained nitrogen/consumed nitrogen, %		46.26		
Component 3: Nitrogen use in egg				
Egg weight, g			28.03	
Nitrogen in egg, %			28.44	
Nitrogen deposited in egg/consumed nitrogen			37.20	
Component 4: Body changes				
Final weight, kg				33.97
Weight change, g				49.30

significant results. In Table 5, the regression equations, probabilities of F and the (R^2) determination coefficients obtained in these variables are shown.

Experiment 2

Four main components were identified, that explained 80.3% of the total variance of the experiment (Table

la mayor relación dentro de este componente fueron requerimiento de lisina para mantenimiento, pérdida de lisina corporal, requerimiento total de lisina y requerimiento de lisina/g de masa de huevo, que representaron el requerimiento de lisina en cada uno de los componentes fisiológicos más importantes en gallinas de postura: mantenimiento, ganancia o pérdida de tejidos y producción de huevo. El

6). Components 1 (productivity), 2 (use of nitrogen) and 4 (body changes), were defined in the same manner than in experiment 1. In component 3, use of nitrogen in eggs, grouped together the variables that had more relationship with the amount of nitrogen content and excretion through egg: egg weight, nitrogen content in egg and nitrogen deposited in egg/nitrogen consumed.

The least square means and the standard error of the means of the variables that formed each one of the described components and the results of the non-orthogonal contrasts that were evaluated are shown in Table 7. When comparing the results of the diets with 0.66% of digestible lysine (diets 1 and 2) against diets with 0.79% of digestible lysine (diets 3, 4 and 5), it was found that egg production, egg mass, feed efficiency and the retention of nitrogen in grams were higher ($P < 0.05$) in the diets with higher amount of lysine. There were no differences found between treatments, when comparing diet 1 (0.66% lysine) against 2 (0.66% lysine + 10% amino acids), nor when comparing diet 3 (0.79% lysine) against 4 (0.79% lysine + amino acids to cover the recommended ideal profile). When comparing diet 3 against 5 (0.79% lysine + 10% amino acids surpassing the recommended profile) egg production, egg mass, feed efficiency and nitrogen retention/consumed nitrogen were higher ($P < 0.05$) in the hens fed with diet 3.

Discussion

An important requirement for experiments where amino acid requirements are evaluated, is that the birds remain in a stable situation,[3] that is to say, that the production conditions be similar from the beginning to the end of the experiment. One of the disadvantages of a long term experiment is that in time, production levels may change, as well as body weight, and this has in consequence changes in amino acid requirements for production, maintenance and body weight gain, which could cause an estimate above or below the total requirement of the amino acid that is being studied. In several previous works it has been seen that in hens it is possible to detect differences due to the effect of excess or deficiency in amino acids in one or two weeks;[16,17] in longer duration studies, the first two weeks are considered as a period of amino acid depletion; the production parameters start being recorded from the third week on.[18,19] Another of the advantages of the short term experiments is that they allow the evaluation of the nutrimental quality of complete feed and ingredients in a very short time, in such a manner that the necessary corrections can be made in order to obtain diets or a more precise formula very quickly.

componente 4, uso de nitrógeno, reflejó la eficiencia de uso, digestiva o metabólica, del nitrógeno consumido y quedó representado por las variables, nitrógeno retenido y nitrógeno retenido/nitrógeno consumido. El componente 5, nitrógeno corporal, indicó el estado de las reservas de nitrógeno al inicio y final del experimento.

En el Cuadro 4 aparecen las medias de mínimos cuadrados y el error estándar de la media de las variables que integran cada uno de los componentes descritos. Después de realizar el análisis de regresión en cada una de las variables de respuesta citadas, se encontró que las variables masa de huevo, eficiencia alimentaria, cambio de nitrógeno corporal, pérdida de lisina corporal, requerimiento de lisina/g de masa de huevo y retención de nitrógeno/nitrógeno consumido mostraron los resultados más significativos. En el Cuadro 5 se presentan las ecuaciones de regresión, la probabilidades de F y los coeficientes de determinación (R^2) obtenidos en estas variables.

Experimento 2

Se identificaron cuatro componentes principales, que explicaron 80.3% de la varianza total del experimento (Cuadro 6). Los componentes 1 (productividad), 2 (uso de nitrógeno) y 4 (cambios corporales), se definieron de la misma manera que en el experimento 1. En el componente 3, uso de nitrógeno en huevo, quedaron agrupadas las variables con mayor relación con la cantidad de nitrógeno que contiene y que se excreta a través del huevo: peso del huevo, contenido de nitrógeno en huevo y nitrógeno depositado en huevo/nitrógeno consumido.

Las medias de mínimos cuadrados y el error estándar de la media de las variables que integraron cada uno de los componentes descritos, y los resultados de los contrastes no ortogonales evaluados se presentan en el Cuadro 7. Al comparar los resultados de las dietas con nivel de 0.66% de lisina digestible (dietas 1 y 2) contra las dietas con un nivel de 0.79% de lisina digestible (dietas 3, 4 y 5), se encontró que la producción de huevo, masa de huevo, eficiencia alimentaria, y la retención de nitrógeno en gramos fueron mayores ($P < 0.05$) en las dietas con mayor nivel de lisina. No se encontraron diferencias entre tratamientos, al comparar la dieta 1 (0.66% de lisina) contra la 2 (0.66% de lisina + 10% de aminoácidos), ni al comparar la dieta 3 (0.79% de lisina) contra la 4 (0.79% de lisina + aminoácidos para cubrir el perfil ideal). Al comparar la dieta 3 contra la 5 (0.79% de lisina + 10% de aminoácidos por arriba del perfil recomendado) se encontró que la producción de huevo, masa de huevo, eficiencia alimentaria y la retención de nitrógeno/nitrógeno consumido fueron

Cuadro 7

MEDIAS DE MÍNIMOS CUADRADOS Y ERROR ESTÁNDAR DE LA MEDIA Y RESULTADOS DE LOS CONTRASTE NO ORTOGONALES EVALUADOS EN LAS VARIABLES DE LOS COMPONENTES IDENTIFICADOS EN EL EXPERIMENTO 2

MEANS OF LEAST SQUARES AND STANDARD ERROR OF THE MEAN AND RESULTS OF THE NON-ORTHOGONAL CONTRASTS EVALUATED IN THE COMPONENT VARIABLES IDENTIFIED IN EXPERIMENT 2

	Diet [a]					
	1	*2*	*3*	*4*	*5*	*SEM* [b]
Component 1: Productivity						
Egg production, % [cd]	75.10	70.50	83.33	82.53	75.00	3.008
Egg mass, g [bc]	45.41	43.41	52.00	50.11	45.68	1.940
Feed efficiency [cd]	0.57	0.54	0.65	0.62	0.57	0.025
Component 2: Use of nitrogen						
Retained nitrogen, g [c]	0.90	0.84	1.15	1.17	1.12	0.052
Retained nitrogen/ consumed nitrogen, % [d]	45.05	42.34	49.03	50.74	46.65	2.455
Component 3: Use of nitrogen in egg						
Egg weight, g	60.53	61.99	62.35	61.20	61.00	1.091
Nitrogen in egg, %	1.88	1.91	1.87	1.79	2.04	0.053
Nitrogen deposited in egg/ Consumed nitrogen	0.42	0.42	0.41	0.40	0.39	0.019
Component 4: Body changes						
Initial weight, kg	1.46	1.51	1.52	1.48	1.50	0.039
Change of weight, g	−61.7	20.0	6.7	−23.3	−41.7	25.04

[a] 1) Diet with 16.0% of CP and 0.66% of digestible lysine, 2) The same as 1 plus 10% of methionine, cystine, threonine, tryptophan, arginine, isoleucine and valine surpassing the recommended profile, 3) Diet with 18.0% of CP and 0.79% digestible lysine, 4) The same as 3 with the addition of threonine, tryptophan, arginine, isoleucine and valine until the recommended profile was covered exactly, and 5) The same as 3 plus 10% of methionine, cystine, threonine, tryptophan, arginine, isoleucine and valine surpassing the recommended profile.

[b] SEM = Standard error of the mean.

[c] Significant effect of contrast 1 (Diets 1 and 2 *vs* Diets 3, 4 and 5; $P < 0.05$).

[d] Significant effect of contrast 4 (Diet 3 *vs* Diet 5; $P < 0.05$).

The productivity increments that were obtained due to the increase of lysine in the diet agree with what has been recorded in previous studies.[19-21] The reduction of nitrogen loss and lysine loss, in agreement with the increase of lysine in the diet simply indicates that less amount of lysine is required from body protein for vital activity maintenance, or to maintain egg production. On the other hand, the total retention of nitrogen was reduced with each increment in the level of lysine, and this was probably due to the fact that as the level of protein in the diet was increased, sorghum content was reduced and soy paste was increased, and this increased the

mayores ($P < 0.05$) en las gallinas alimentadas con la dieta 3.

Discusión

Un requisito importante en experimentos donde se evalúa el requerimiento de aminoácidos, es que las aves deben permanecer en una situación estable;[3] es decir, que las condiciones de producción sean similares desde el principio hasta el final del experimento; una de las desventajas de los experimentos de larga duración es que el tiempo que se llevan a cabo los niveles de producción pueden cambiar, así como el

non-essential amino acid concentration when these degraded, there probably was an increase of nitrogen elimination through excrement.

Even though the regression analysis of the total lysine requirements was not significant, this variable increased when the diet lysine concentration increased as a direct effect of the greater amount of egg mass (Table 4), which means that the greater the amount of egg mass produced, the greater the amount of lysine required to maintain the level of production on the other hand, the requirement of lysine per gram of egg mass manifested an opposite effect. The lysine requirement for maintenance was not different between treatments, but the proportion of consumed lysine in relation to the one used for maintenance decreased with each lysine increment in the diet (32%, 24%, 20% and 17% for the levels 0.40%, 0.53%, 0.66% and 0.79 % lysine in the diet, respectively). In this manner, at low levels of diet lysine, the requirement per gram of egg mass was greater because there was a higher demand of lysine available for maintenance functions.

From experiment 1 we must highlight that the estimated lysine requirement per gram of egg mass (range from 11.76 to 14.28) is similar or is within the estimated range of two previous works (from 11.83 to 14.07 and from 9.64 to 14.96)[1, 21] for white shell egg laying hens. On average, the digestible lysine requirement per gram of egg mass, estimated in experiment 1, was 12.96 mg, that is close to the 13.13 average estimated in another study.[13] In a literature reviewed[13] a requirement of 10 mg of lysine per gram of produced egg mass was estimated, without considering the lysine consumption for maintenance. In this work, also excluding the maintenance expenditure, a requirement was estimated of 10.42 mg of lysine per gram of egg mass that is produced, and this is also a value quite close to the one found in the review that was cited above.[13]

In one of the studies mentioned above,[21] it was concluded that the digestible lysine requirement for hens in laying peak (97% of egg production with 57 g egg mass produced daily) was 720 mg/day. If the lysine requirement estimated in this study is taken into consideration (12.96 mg of digestible lysine/g of egg mass) and it is multiplied by the average egg mass produced in the previous work,[21] a lysine requirement of 738.7 mg/day is obtained, and this varies only 3% from the requirement (720 mg/ day) obtained by the same authors. This small difference in the estimated requirement may be due to differences in age of the hens that were used (posture peak *versus* end of posture period in this work) and the experimental design, especially the feeding system (feed consumption *ad libitum, vs* restricted consumption in this work).

peso corporal, lo que trae como consecuencia cambios en el requerimiento de aminoácidos para producción, mantenimiento y ganancia de proteína corporal, lo cual podría causar una sobre o subestimación del requerimiento total del aminoácido de interés. En varios trabajos previos se ha demostrado que en gallinas es posible detectar diferencias por efecto de un exceso o deficiencia de aminoácidos en un lapso de una a dos semanas;[16,17] en trabajos de más larga duración, las primeras dos semanas se consideran como el periodo de depleción de aminoácidos; los parámetros de producción empiezan a contabilizarse a partir de la tercera semana.[18,19] Otra de las ventajas de los experimentos de corta duración es que permiten la evaluación de la calidad nutrimental de dietas completas y de ingredientes en un lapso muy corto, de manera que se puedan hacer las correcciones necesarias para obtener dietas o una fórmula más precisa de manera más rápida.

Los incrementos en productividad obtenidos debido al incremento de lisina en la dieta concuerdan con los que se han registrado en estudios previos.[19-21] La reducción en la pérdida de nitrógeno y en la pérdida de lisina, conforme se incrementó el nivel dietético de lisina, indican simplemente que se requirió menor cantidad de lisina a partir de la proteína corporal para el mantenimiento de las actividades vitales, o para mantener la producción de huevo. Por otro lado, la retención total de nitrógeno se redujo con cada incremento en el nivel de lisina, lo cual se debió, posiblemente, a que conforme se incrementó el nivel de proteína en la dieta, se redujo el contenido de sorgo y se incrementó la pasta de soya, lo que aumentó la concentración de aminoácidos no esenciales; al degradarse estos aminoácidos, probablemente se produjo incremento en la excreción de nitrógeno a través de las excretas.

Aunque en el análisis de regresión el requerimiento total de lisina no fue significativo, esta variable se incrementó al aumentar la concentración de lisina dietética como un efecto directo de la mayor masa de huevo (Cuadro 4), lo que significa que entre mayor fue la cantidad de masa de huevo producida, mayor fue la cantidad de lisina requerida para mantener el nivel de producción; en cambio, el requerimiento de lisina por gramo de masa de huevo manifestó un efecto opuesto. El requerimiento de lisina para mantenimiento no resultó diferente entre tratamientos, pero la proporción de lisina consumida respecto de la usada para mantenimiento disminuyó con cada incremento de lisina en la dieta (32%, 24%, 20% y 17% para los niveles de 0.40%, 0.53%, 0.66% y 0.79 % de lisina en la dieta, respectivamente). De esta manera, a bajos niveles de lisina dietética el requerimiento por gramo de masa de huevo fue

Now, for hens 60-65 weeks of age, such as the ones used for this work, maximum production is estimated at 85% egg laying, with an egg mass of 50 g/day (for example, with a consumption of feed of 100 g/d). If we multiply the estimated requirement average (12.96 mg of lysine) by the egg mass, a requirement of 648 mg of digestible lysine/day is obtained, which is equivalent to a sorghum-soy diet with approximately 16% CP with 100 g/d average consumption. This estimated requirement is slightly above the one recommended for 58 week of age hens, by the Hy-Line Handling Guide;[22] nevertheless, according to the execution tables of the same Guide, in 62 weeks of age hens it is estimated that egg production is 78% under normal conditions, this would explain the lower requirement. This value is slightly below the optimum expected production of the hens that were used in this experiment if the feed consumption had been *at libitum*. Thus, the estimated differences in lysine requirement in hens of the same line and age simply reflect the differences in the expected production level.

Scientific literature indicates that the recommended lysine consumption to achieve optimum productivity varies from 690 mg/day[10] up to 860 mg/day,[21] which indicates a variation of more than 20% in its requirement. This is due to differences in physiological, nutrimental and environmental aspects of each study. In this work, lysine requirements of layer hens was estimated, through the combination of results of an empirical point of view with a factorial type procedure, and with this it is possible to obtain more precise results, since this point of view takes into consideration, besides the lysine requirement for egg production, the amount of lysine required for maintenance functions and protein gain or loss. Besides, at the moment the obtained lysine requirement is expressed, per egg mass and the corrections are made according to this variable, it was found that the requirement that was obtained is closely in agreement with the requirement estimated in other works, independently of the physiological, nutrimental or environmental factors involved.

We must indicate that of the diets used in experiment 1, as the lysine level increased (therefore, the level of protein), there was a reduction of the concentration of certain amino acids, such as threonine, tryptophan, but especially arginine, isoleucine and valine (Table 2). When the profile of these amino acids in the diets with 0.66% and 0.79% lysine, is compared with the ideal profiles proposed before,[1,10] it was observed that the proportion of arginine was slightly marginal to the recommendations by Coon and Zhang;[1] the proportion of isoleucine was between 5% and 10% less than recommended by

mayor porque hubo una mayor demanda de lisina disponible para funciones de mantenimiento.

Del experimento 1 cabe destacar que el requerimiento de lisina estimado por gramo de masa de huevo (rango de 11.76 a 14.28) es similar o se encuentra dentro del rango estimado en dos trabajos anteriores (de 11.83 a 14.07 y de 9.64 a 14.96)[1,21] para gallinas ponedoras blancas. En promedio, el requerimiento de lisina digestible por gramo de masa de huevo, estimado en el experimento 1, fue de 12.96 mg, que es muy cercano al promedio de 13.13 estimado en otro estudio.[13] En una revisión de la literatura[13] se estimó un requerimiento de 10 mg de lisina por gramo de masa de huevo producida, sin considerar el gasto de lisina para mantenimiento. En el presente trabajo, excluyendo también el gasto de lisina para mantenimiento, se estimó un requerimiento de 10.42 mg de lisina por gramo de masa de huevo producida, que es también un valor muy cercano al encontrado en la revisión antes citada.[13]

En uno de los estudios mencionados previamente,[21] se concluyó que el requerimiento de lisina digestible para gallinas en el pico de postura (97% de producción de huevo con 57 g de masa de huevo producida diariamente) fue de 720 mg/día. Si se considera el requerimiento de lisina estimado en el presente estudio (12.96 mg de lisina digestible/g de masa de huevo) y se multiplica por el promedio de masa de huevo producido en el trabajo anterior,[21] se obtiene un requerimiento de lisina de 738.7 mg/día, que varía sólo 3% del requerimiento obtenido (720 mg/día) por los mismos autores. Esta pequeña diferencia en el requerimiento estimado puede deberse a las diferencias en la edad de las gallinas usadas (pico de postura contra final del periodo de postura en este trabajo) y al diseño del experimento, en especial al sistema de alimentación (consumo de alimento a libertad *vs* consumo restringido en este trabajo).

Ahora bien, para gallinas de 60-65 semanas de edad, como las que se usaron en el presente trabajo, se estima una producción máxima de 85% de postura con una masa de huevo de 50 g/día (por ejemplo, con un consumo promedio de alimento de 100 g/d). Si se multiplica el promedio del requerimiento estimado (12.96 mg de lisina) por la masa de huevo, se obtiene un requerimiento de 648 mg de lisina digestible/día, lo cual equivale a una dieta sorgo-soya con aproximadamente 16% de PC con un consumo por ave de 100 g/d. Este requerimiento estimado es ligeramente superior al recomendado en la Guía de Manejo, de Hy-Line[22] para gallinas de más de 58 semanas de edad; sin embargo, de acuerdo con las Tablas de ejecución de la misma Guía, en gallinas de 62 semanas de edad se estima una producción de huevo de 78% en condiciones normales, lo que

NRC;[10] and the valine concentrations were between 3% and 11% less than the recommendations mentioned above.[1,10] Nevertheless, in experiment 2, where all the marginal or deficient amino acids were supplemented in crystalline form, in the diets with 0.66% and 0.79% lysine, none of the positive effects of any of the evaluated variables were observed. The above suggests that further evaluation and refining of the proposed ideal profiles should be continued, especially under true production conditions.

The lower productivity observed in hens fed with diet 5 (0.79 lysine + 10% amino acids), when compared to diet 3 (0.79% lysine), probably was due to the fact that at this protein amount, supplementation of essential amino acids caused a state of unbalance or antagonism between amino acids at the metabolic level,[6] and this was reflected in a lower efficiency of nitrogen use (Table 7). The same tendency may be observed in hens fed with diet 2 (0.66 lysine + amino acids) and 4 (0.79 lysine + amino acids), where productive parameters were slightly lower than the respective control diets (diets with 0.66% and 0.79% lysine), even though this result was not significant. Since several decades ago, it has been shown That the absorption of crystalline amino acids added to the diet is quicker than the joint between proteins and amino acids.[23,24] The first ones, by getting faster to the protein synthesis sites may be degraded, since to begin the protein synthesis, all the essential components should be present simultaneously. The differences in the rate of amino acid absorption may be exacerbated due to the feeding system, since when the animals are fed once per day the efficiency of the use of crystalline amino acids is lower than when two or more meals are offered per day.[25,26] In this work, feed was offered once per day and in a restricted manner, that could have caused a lower rate of food passage through the digestive tract and increment of absorption rate differences between the supplemented crystalline amino acids and those joined to the protein.

The results of the first experiment indicate that in Hy-Line W-36 hens of 60 to 65 weeks of age, fed with diets based on sorghum and soy paste, the estimated digestible lysine requirement per gram of egg mass was 12.96 mg, that is similar to what is recorded by other authors. In the second experiment, the addition of crystalline amino acids to equal or surpass the ideal recommended profiles did not affect any of the evaluated variables; also, the results suggest that isoleucine and valine requirements are at least 10% less than the suggested requirements.

Acknowledgements

The authors thank Fermentaciones Mexicanas, S. A.

explica que su requerimiento sea menor. Este valor se encuentra ligeramente por debajo del óptimo de producción esperado en las gallinas usadas en este experimento si el consumo de alimento fuera a libertad. De esta manera, las diferencias estimadas en el requerimiento de lisina en gallinas de la misma línea y edad reflejan simplemente las diferencias en el nivel de producción esperado.

En la literatura científica se dice que el consumo de lisina recomendado para lograr una óptima productividad varía desde 690 mg/día[10] hasta 860 mg/día,[21] lo que indica una variación de más de 20% en su requerimiento; lo anterior obedece a las diferencias en aspectos fisiológicos, nutrimentales y ambientales propios de cada estudio. En el presente trabajo se estimó el requerimiento de lisina en ponedoras, que se obtuvo a través de la combinación de resultados de un enfoque empírico con un procedimiento de tipo factorial, con lo cual es posible obtener resultados más precisos, ya que con este enfoque se considera, además del requerimiento de lisina para producción de huevo, la cantidad de lisina requerida para funciones de mantenimiento y ganancia o pérdida de proteína. Además, al momento de expresar el requerimiento de lisina obtenido, por unidad de masa de huevo, y hacer las correcciones de acuerdo con esta variable, se encontró que el requerimiento obtenido concuerda muy de cerca con el requerimiento estimado en otros trabajos, independientemente de los factores fisiológicos, nutrimentales o ambientales involucrados.

De las dietas usadas en el experimento 1 cabe señalar que conforme se incrementó el nivel de lisina (y por consecuencia, el nivel de proteína) se redujo la concentración de algunos aminoácidos, como treonina, triptofano, pero en especial de arginina, isoleucina y valina (Cuadro 2). Al comparar el perfil de estos aminoácidos en las dietas con 0.66% y 0.79% de lisina, con los perfiles ideales propuestos anteriormente,[1,10] se observó que la proporción de arginina fue ligeramente marginal a las recomendaciones de Coon y Zhang;[1] la proporción de isoleucina fue entre 5% y 10% menor a lo recomendado por el NRC;[10] y las concentraciones de valina fueron entre 3% y 11% menores a las dos recomendaciones anteriores.[1,10] Sin embargo, en el experimento 2, donde se suplementaron todos los aminoácidos marginales o deficientes en forma cristalina, a las dietas con 0.66% y 0.79% de lisina, no se observaron efectos positivos en ninguna de las variables evaluadas. Lo anterior sugiere que los perfiles ideales propuestos se deben seguir evaluando y refinando, en especial, bajo condiciones propias de producción.

La menor productividad observada en las gallinas

de C. V. for the donation of the crystalline amino acids and Jose Antonio Espinosa Garcia for his aid in the statistical analysis.

Referencias

1. Coon C, Zhang B. Ideal amino acid profile and metabolizable energy requirement for layers. Proceedings of the 59th Minnesota Nutrition Conference & IPC Technical Symposium; 1998 September 16-18; Bloomington, MN; Bloomington, University of Minnesota, 1998 : 263-278
2. Morris TR, Gous RM. Partitioning the response to protein between egg number and egg weight. Br Poult Sci 1988;29:93-99.
3. Fisher C. Responses of laying hens to amino acids. In: D'Mello JPF, editor. Amino Acids in Farm Animal Nutrition. Wallingford, UK:CAB International, 1994:245-280.
4. Fisher C. Amino acid requirements of broiler breeders. Poult Sci 1998;77:124-133.
5. Leeson S, Summers JD. Commercial Poultry Production. Guelph, Ontario. CA: University Books; 1991.
6. D'Mello JPF. Responses of growing poultry to amino acids. In: D'Mello JPF, editor. Amino acids in farm animal nutrition. Wallingford, UK:CAB International, 1994:205-243.
7. Parsons CM. Amino acid digestibility for poultry: feedstuff evaluation and requirements. Biokyowa Technical Review-1. Chesterfield, Missouri, US: Byokyowa Inc; 1991.
8. Koelkebeck KW, Parsons CM, Wang X. Effect of acute heat stress on amino acid digestibility in laying hens. Poult Sci 1998;77:1393-1396.
9. Boorman KN, Burgess AD. Responses to amino acids. In: Fisher C, Boorman KN, editores. Nutrient requirements of poultry and nutritional research. London, Butterworths,1986:99-123.
10. National Research Council. Nutrient Requirements of Poultry. 9th edition: Washington DC, US: National Academy Press; 1994.
11. Bourdillon A, Carré B, Conan L, Duperray J, Huyghebaert G, Leclercq B, *et al.* European reference method for the *in vivo* determination of metabolisable energy with adult cockerels: reproducibility, effect of food intake and comparison with individual laboratory methods. Br Poult Sci 1990;31:557-565.
12. Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis. 15th edition. Arlington, VA, US: Association of Analytical Chemists. 1990.
13. McDonald MW, Morris TR. Quantitative review of optimum amino acid intakes for young laying pullets. Br Poult Sci 1985;26:253-264.
14. SAS, SAS User's Guide. Statistics (Computer Program) version 5 ed. Cary (NC): SAS Inst Inc 1995.
15. Steel RG, Torrie JH. Principles and Procedures of Statistics: A biometrical approach 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 1980.
16. Ishibashi YO, Ithoh T, Fujimura S, Koide K, Watanabe

alimentadas con la dieta 5 (0.79 de lisina + 10% de aminoácidos), en relación con la dieta 3 (0.79% de lisina), probablemente se debió a que a este nivel de proteína la suplementación de los aminoácidos esenciales provocó un estado de desbalance o antagonismo de aminoácidos a nivel metabólico,[6] lo que se reflejó en una menor eficiencia de uso del nitrógeno (Cuadro 7). La misma tendencia puede observarse en las gallinas alimentadas con las dietas 2 (0.66 de lisina + aminoácidos) y 4 (0.79 de lisina + aminoácidos), en donde los parámetros productivos fueron ligeramente inferiores a las dietas testigo respectivas (dietas con 0.66% y 0.79% de lisina), aunque este resultado no fue significativo. Desde hace varias décadas se había demostrado[23,24] que la absorción de los aminoácidos cristalinos adicionados en la dieta es más rápida que la de los aminoácidos unidos a la proteína; los primeros, al llegar más rápido a los sitios de síntesis de proteína pueden ser degradados debido a que para el inicio de la síntesis de proteína, todos los componentes esenciales deben estar presentes simultáneamente. Las diferencias en la tasa de absorción de aminoácidos se puede exacerbar debido al sistema de alimentación, ya que cuando los animales son alimentados una vez por día, la eficiencia de uso de aminoácidos cristalinos es menor que cuando se ofrece dos o más comidas por día.[25,26] En el presente trabajo el alimento se ofreció una vez al día y en forma restringida, lo cual pudo provocar una menor tasa de pasaje del alimento a través del tracto digestivo, e incrementar las diferencias en las tasas de absorción entre los aminoácidos cristalinos suplementados y aquellos unidos a la proteína.

Los resultados del primer experimento indican que en gallinas Hy-Line W-36 de 60 a 65 semanas de edad alimentadas con dietas a base de sorgo y pasta de soya el requerimiento estimado de lisina digestible por gramo de masa de huevo fue de 12.96 mg, que es similar a lo registrado por otros autores. En el segundo experimento se observó que la adición de aminoácidos cristalinos para igualar o exceder los perfiles ideales recomendados no afectaron ninguna de las variables evaluadas; además, los resultados sugieren que el requerimiento de isoleucina y valina es cuando menos 10% menor al requerimiento sugerido.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Fermentaciones Mexicanas, S. A. de C. V. la donación de los aminoácidos cristalinos y a José Antonio Espinosa García su apoyo en los análisis estadísticos.

R. Threonine requirements of laying hens. Poult Sci 1998;77:998-1002.
17. Sohail S, Bryant M, Roland D. Influence of supplemental lysine on egg size and production of hens fed diets formulated based on lysine. Poult Sci 1998;77Supp l:387.
18. Harms RH, Russell GB. Optimizing egg mass with amino acid supplementation of a low-protein diet. Poult Sci 1993;72:1892-1896.
19. Harms RH, Russell GB. A re-evaluation of the protein and lysine requirement for broiler breeder hens. Poult Sci 1995;74:581-585.
20. Novak C, Yakout H, Scheideler S. The effect of dietary lysine level and TSSA:lysine ratio on egg production parameters and egg yield. Poult Sci 1998;78 Supp l:388.
21. Schutte JB, Smink W. Requirement of the laying hen for apparent fecal digestible lysine. Poult Sci 1998;77:697-701.
22. Hy-Line Internacional, Inc. Guía de manejo. Pollitas, pollonas y ponedoras variedad W-36. Des Moines Iowa, USA. Hy-Line Internacional 1999;1:1-22.
23. Berg CP, Rose WC. Tryptophane and growth. I. Growth upon a tryptophane deficient basal diet supplemented at varying intervals and the separate feeding of tryptophane. J Biol Chem 1929;82:299-307.
24. Geiger E. Experiments with delayed supplementation of incomplete amino acid mixtures. J Nutr 1947;34: 97-105.
25. Batterham ES, Bayley HS. Effect of frequency of feeding of diets containing free or protein-bound lysine on the oxidation of [14C]phenylalanine by growing pigs. Br J Nutr 1989;62:647-657.
26. Yen JT, Easter RA, Kerr BJ. Absorption of free or protein-bound lysine and threonine in conscious multicannulated pigs. In: Verstegen MWA, Huisman J, den Hartog LA, editors. Digestive Physiology in Pigs. EAAP;Wageningen: The Netherlands, 1991;43:79.