



## EFFECTO DE DIETAS BAJAS EN PROTEÍNA SUPLEMENTADAS CON AMINOÁCIDOS SOBRE EL COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO, RENDIMIENTO DE LA CANAL E INTEGRIDAD INTESTINAL EN POLLOS†

[EFFECT OF LOW PROTEIN DIETS SUPPLEMENTED WITH AMINO ACIDS ON PRODUCTIVE PERFORMANCE, CARCASS YIELD AND INTESTINAL INTEGRITY ON BROILERS]

Adriana Hernández-Huesca<sup>1</sup>, Arturo Cortes-Cuevas<sup>1\*</sup>,  
Mireya Juárez-Ramírez<sup>2</sup>, José Arce-Menocal<sup>3</sup>, Melanie Margarito-Romero<sup>1</sup>  
and Ernesto Ávila-González<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Universidad Nacional Autónoma de México. Calle Manuel M. López s/n, Zapotitla Tláhuac, Tláhuac, 13300 Ciudad de México, México. Email: [adri\\_hdzh0219@hotmail.com](mailto:adri_hdzh0219@hotmail.com), [cortescuevasarturo@yahoo.com](mailto:cortescuevasarturo@yahoo.com), [melanie.margarito332@gmail.com](mailto:melanie.margarito332@gmail.com), [avilaernesto@yahoo.com](mailto:avilaernesto@yahoo.com)

<sup>2</sup>Departamento de Patología. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Universidad Nacional Autónoma de México. Universidad 3000, Coyoacán, C.U., 04360 Ciudad de México, CDMX, México. Email: [juarezm@hotmail.com](mailto:juarezm@hotmail.com)

<sup>3</sup>Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. C. de Santiago Tapia 403, Centro, 58000 Morelia, Michoacan, México. Email: [josearce\\_55@yahoo.com.mx](mailto:josearce_55@yahoo.com.mx)  
\*Corresponding author

### SUMMARY

**Background.** A global approach in the development of diets low in crude protein (CP) supplemented with amino acids is to obtain productive yields similar to standard diets. **Objective.** To evaluate the reduction of CP in diets with similar amounts of Methionine, Lysine, Threonine, Valine, Arginine, and Tryptophan and to measure its effect on the productive performance, carcass yield and intestinal integrity. **Methodology.** 882 mixed Ross chickens from 1 to 49 days were used in a 2X3 factorial arrangement; one factor was sex (male and female) and another 3 PC levels (0, 1 and 2% less), each treatment had 6 replicates of 25 chickens each. **Results.** The results indicated similar ( $P>0.05$ ) productive and carcass performance with the different protein levels. Females showed a higher percentage of abdominal fat compared to males ( $P<0.05$ ). The decrease in protein increased the percentage of abdominal fat ( $P<0.05$ ). For intestinal villi, the length of the villi was greater ( $P<0.05$ ) in males compared to females. For crypt depth, there was no difference ( $P>0.05$ ) in the sex factor or the protein factor. **Implications.** PC reduction lowers costs and reduces nitrogen pollution. **Conclusion.** It is concluded that diets reduced in CP supplemented with amino acids do not affect productivity, carcass performance and intestinal integrity.

**Key words.** Low protein diets; amino acids; productive performance; meat yield; broilers.

### RESUMEN

**Antecedentes.** Un enfoque global en el desarrollo de dietas bajas en proteína cruda (PC) suplementadas con aminoácidos es obtener rendimientos productivos similares a dietas estándar. **Objetivo.** Se realizó un estudio para evaluar la disminución de PC en dieta con cantidades similares de Metionina, Lisina, Treonina, Valina, Arginina y Triptofano y medir su efecto en los parámetros productivos, rendimiento de la canal e integridad intestinal. **Metodología.** Se utilizaron 882 pollos Ross mixtos de 1 a 49 días en un arreglo factorial 2X3; un factor el sexo (macho y hembra) y otro 3 niveles de PC (0, 1 y 2% menos), cada tratamiento tuvo 6 réplicas de 25 pollos cada una. **Resultados.** Los resultados indicaron similar ( $P>0.05$ ) rendimiento productivo y de la canal con los diferentes niveles de proteína. Las hembras mostraron mayor porcentaje de grasa abdominal en comparación con los machos

† Submitted April 18, 2023 – Accepted January 15, 2024. <http://doi.org/10.56369/tsaes.4905>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = Adriana Hernández-Huesca: <http://orcid.org/0009-0001-2044-3875>, Arturo Cortes-Cuevas: <http://orcid.org/0000-0002-9509-3750>, Mireya Juárez-Ramírez: <http://orcid.org/0000-0002-1440-2479>, José Arce-Menocal: <http://orcid.org/0000-0002-0917-9524>, Melanie Margarito-Romero: <http://orcid.org/0009-0009-5766-3343> and Ernesto Ávila-González: <http://orcid.org/0000-0002-6036-1321>

( $P < 0.05$ ). La disminución de proteína, incrementó el porcentaje grasa abdominal ( $P < 0.05$ ). Para vellosidades intestinales fue mayor la longitud de vellosidades ( $P < 0.05$ ) en machos respecto a hembras. Para profundidad de criptas no existió diferencia ( $P > 0.05$ ) al factor sexo ni al factor proteína. **Implicaciones.** La reducción de PC, disminuye costos y reduce la contaminación por nitrógeno. **Conclusión.** Se concluye que dietas reducidas en PC suplementadas con aminoácidos, no afectan los parámetros productivos, rendimiento de la canal e integridad intestinal.

**Palabras clave.** Dietas bajas en proteína; aminoácidos; parámetros productivos; rendimiento cárnico; pollo de engorda.

## INTRODUCCIÓN

La industria avícola ha aumentado el número de unidades de producción y el número de aves alojadas por metro cuadrado (García, 2012), para satisfacer la demanda de proteína de origen animal, sin dejar a un lado el impacto en materia ambiental sobre la calidad de aire y agua relacionados con la contaminación por Nitrógeno (N) y fósforo (P), por lo cual, es crucial desarrollar mejores dietas para reducir la contaminación por N y P (Sirri *et al.*, 2012) además de la aplicación de nuevas tecnologías (Leinonen *et al.*, 2014) en equipo, instalaciones y manejo (Sirri *et al.*, 2012).

Actualmente, existe un enfoque global en el desarrollo de dietas bajas en proteína cruda suplementadas con aminoácidos sintéticos y obtener rendimientos productivos similares a una dieta estándar (Yin *et al.*, 2020); sin embargo, debe tenerse en cuenta que al formularse dietas y modificar el porcentaje de inclusión de proteína podría afectar el rendimiento productivo y de la canal (Malheriros, 2003).

Un equilibrio adecuado de aminoácidos en los pollos de engorda, desempeña un papel importante en el crecimiento, reduce costos y el impacto ambiental (Barekattain *et al.*, 2019; Harn *et al.*, 2019), además de tener un efecto importante en la salud intestinal (Barekattain *et al.*, 2019). Un desbalance de aminoácidos (AA) por la reducción de proteína tiene un efecto negativo sobre el consumo de alimento y este a su vez sobre la tasa de crecimiento y la composición de la carne (Rama *et al.*, 2011) y un incremento en la actividad bacteriana putrefactiva en el intestino de los pollos de engorda (Macelline *et al.*, 2019).

La disminución de la PC en la dieta ha permitido minimizar los excesos de aminoácidos (Chrystal *et al.*, 2020; Rochell *et al.*, 2016). Dietas reducidas en PC (19 a 15%) suplementadas con AA sintéticos, mejoran la eficiencia del N del 60 al 70% (Hilliari and Swich, 2019). Algunos investigadores, han señalado que la reducción de PC tiene efectos negativos en el rendimiento productivo, (Namroud *et al.*, 2008; Si *et al.*, 2004), el rendimiento de la pechuga (Corzo *et al.*, 2011) y el apetito, aun proporcionando los

requerimientos de AA esenciales (Namroud *et al.*, 2008) además los AA no esenciales pueden convertirse en AA limitantes en la dieta (Harn *et al.*, 2019).

Las dietas reducidas en proteína cruda aumentan la cantidad de grasa en los tejidos y por otro lado, se disminuye la deposición de proteína, con dietas altas en proteína ocurre el efecto contrario reduciendo la deposición de la grasa e incrementa la fijación de proteína (Jariyahatthakij *et al.*, 2018; Hilliar y Swich 2019). Jariyahatthakij *et al.* (2018) sugirieron suplementar durante la etapa de crecimiento AA en la dieta, y posteriormente reducir el contenido energético para mejorar (probablemente) el aprovechamiento de las proteínas y reducir la acumulación de grasa a través de un aumento de la lipólisis y / o la interrupción del transporte de los triglicéridos hacia los tejidos.

Estudios más recientes realizados por Macelline *et al.* (2019) encontraron que pollos de engorda machos Ross 308 criados del día 1 al 35, alimentados con 3 niveles de proteína cruda: alta 23.5 y 20.5% y baja 18 y 17% y baja suplementada con AA 18 y 17% Metionina (Met), Lisina (Lis), Treonina (Tre), Valina (Val), Isoleucina (Ile), Arginina (Arg), Triptófano (Trp), Glicina (Glic) y Serina (Ser) con dos fases de alimentación inicio y crecimiento respectivamente, tuvieron efecto significativo sobre la integridad intestinal; la altura de las vellosidades y la profundidad de la cripta; en donde las aves alimentadas con una dieta alta en proteína y otra baja en proteína suplementada con AA; las dietas altas resultaron ser mejores ( $P < 0.05$ ) que las dietas bajas en proteína, sin efecto en los niveles de proteína sobre la relación entre la altura de las vellosidades con la profundidad de la cripta.

En un estudio similar al anterior Barekattain *et al.* (2019) no encontraron diferencias para la altura o el ancho de las vellosidades, profundidad de la cripta o en la relación entre la altura de las vellosidades y profundidad de la cripta ( $P > 0.001$ ) en yeyuno e íleon en pollos machos Ross 308 del día 9 a 35 día de edad.

Macellini *et al.* (2019) indican que el efecto negativo de dietas bajas en proteína sobre la arquitectura intestinal puede ser atribuido a la reducción de

aminoácidos no esenciales (AANE) como glutamina, glicina y prolina, necesarios en desarrollo del epitelio intestinal y en la producción de secreciones digestivas como la mucina. Barekatin *et al.* (2019) explican que no existe diferencia sobre la integridad intestinal en dietas con diferentes niveles de proteína si se cumplen las necesidades de los aminoácidos esenciales.

Existen pocos estudios, donde adicionaron más de seis aminoácidos sintéticos esenciales en dietas bajas en proteína, donde evalúen los parámetros productivos y el rendimiento de la canal. La reducción de proteína a partir de la pasta de soya, en dietas suplementadas con los aminoácidos más limitantes, es una opción atractiva para mantener parámetros productivos y rendimiento de la canal con un menor costo.

Con estos antecedentes, se realizó la presente investigación, empleando pollos de la estirpe Ross 308 alimentados con dietas formuladas a base de maíz-pasta de soya bajas en proteína cruda suplementadas con aminoácidos sintéticos (DL-Metionina, L-Lis, L-Tre, L-Val, L-Arg y L-Trp) y comparar la respuesta en parámetros productivos, rendimiento de la canal e integridad intestinal.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Lugar de estudio

La investigación se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (C.E.I.E.P.Av.) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en la calle Manuel M. López s/n, colonia Zapotitlán, delegación Tláhuac, en la Ciudad de México, a una altura 2250 msnm, con una temperatura media anual de 18°C y una precipitación pluvial anual de 747mm (Domínguez *et al.*, 2019).

### Manejo de animales y alojamiento

Los métodos de manejo de las aves en el presente estudio se realizaron de acuerdo a lo establecido por el Subcomité Intitucional para el Cuidado y Uso de los Animales Experimentales (SICUAE-FMVZ-UNAM).

Se utilizaron 882 pollos de la estirpe Ross 308, desde el día 1 hasta el día 49 de edad, provenientes de una incubadora comercial, los cuales se alojaron por sexos separados, en casetas experimentales de ambiente natural, en corrales de 3.73m<sup>2</sup>, con cama de viruta de madera de un espesor de 5 cm.

El agua y el alimento se ofrecieron *ad libitum*; en la fase de iniciación se emplearon comederos tipo microtolva y bebederos de vitrolero, posteriormente para las siguientes fases se usaron bebederos de campana y tolvas manuales.

Al día 10 de edad se aplicó la vacuna de Newcastle, y la vacuna emulsionada de Newcastle+Influenza aviar a todas las aves.

### Diseño de experimento y dietas

Las aves fueron distribuidas en un diseño experimental completamente al azar con un arreglo factorial 2x3: donde un factor fue el sexo de las aves y el otro factor dietas maíz+soya con 3 niveles de proteína (dieta sin reducción de PC, menos 1% de proteína cruda y menos 2% de proteína cruda, con cantidades similares de los aminoácidos más limitantes de acuerdo con las recomendaciones del manual de para la estirpe) en cada fase, cada tratamiento contó con 6 réplicas de 25 aves cada una.

Las dietas basales (Tabla 1), se formularon a base de maíz-pasta de soya utilizando 4 fases de alimentación: Iniciador (0-10 días), Crecimiento (11-24 días), Finalizador I (25-39 días) y Finalizador II (40-49 días).

### Parámetros productivos a evaluar

Se evaluaron durante 7 semanas los siguientes parámetros productivos: peso corporal (g), ganancia diaria de peso (g), consumo de alimento (g), índice de conversión alimenticia (kg:kg), porcentaje de mortalidad y la pigmentación de la piel en canal fría.

A los 21 y 42 días de edad se sacrificaron 8 pollos por tratamiento para realizar la medición de las vellosidades intestinales y profundidad de las criptas en duodeno, se colectaron muestras de aproximadamente 2 cm del duodeno (tercio medio del asa duodenal), utilizando agua para el retiro del contenido intestinal y de esta forma limpiar los fragmentos de duodeno.

La técnica de fijación usada fue por perfusión intraluminal e inmersión en formalina al 10% amortiguada a pH de 7.2, posteriormente fueron procesadas por las técnicas de rutina; inclusión en parafina y tinción de rutina con hematoxilina y eosina (Hall, 1995; Allen, 1995).

Los cortes histológicos fueron evaluados a un aumento total de 40X, con un microscopio fotónico (Motic BA310®) adaptado a una cámara para microscopía digital y conectado a un equipo de cómputo, mediante el software LAS EZ de Leica.

**Tabla 1. Composición de las dietas basales experimentales para pollos de engorda.**

Dieta	23% de PC (1-10 días)	21.5%PC (11-24 días)	19.5% de PC (25-39 días)	18% de PC (40-49 días)
Ingrediente	Kg	Kg	Kg	Kg
Maíz amarillo	551.036	571.391	597.309	628.975
Pasta de soya	333.785	310.896	265.373	232.638
DDGS	60	60	60	60
Aceite de soya	15.144	23.003	39.964	39.000
Carbonato de calcio	20.129	17.753	16.621	15.064
Fosfato de calcio	4.576	2.831	0.828	2.895
Cloruro de Sodio	2.577	2.648	2.748	3.000
Premezcla de vitaminas y minerales	2.500	3.000	3.000	3.000
Fitasa	0.080	0.080	6.000	6.000
Nicarbazina	0.500	0.500	0.080	0.060
Bacitracina	0.300	0.300	0.500	0.500
Secuestrante de micotoxinas	1.000	1.000	0.300	0.300
DL-Metionina	3.868	3.052	1.000	1.000
L-Lisina HCl	3.305	2.345	3.061	2.866
L-Treonina	1.200	1.200	2.265	2.566
Creamino-Arginina	-	-	0.953	1.050
L-Valina	-	-	-	0.685
L-Triptófano	-	-	-	0.400
Nutrientes	<b>Análisis calculado</b>			
E.M. Kcal/Kg	3000	3100	3200	3.201
Proteína %	23.00	21.50	19.59	16
Fósforo no fítico %	0.480	0.440	0.390	0.370
Calcio %	1.000	0.870	0.780	0.740
Ácido linoleico %	1.575	2.648	3.566	3.333
Met + Cist. Dig. %	0.950	0.870	0.800	0.752
Lisina Dig. %	1.280	1.150	1.020	0.960
Treonina Dig. %	0.856	0.801	0.680	0.642
Arginina Dig. %	1.396	1.284	1.090	1.040
Triptofano Dig. %	0.221	0.203	0.284	0.256
Valina Dig. %	0.964	0.893	0.780	0.752
Leucina Dig. %	1.781	1.678	1.384	1.166

Las vellosidades así como la profundidad de la cripta se midieron en orientación longitudinal desde la base a la punta de cada una de ellas, obteniendo valores en  $\mu\text{m}$ . Se analizaron de 5-6 campos microscópicos por cada corte histológico para obtener el número de vellosidades presentes en dicho campo microscópico del duodeno.

Al concluir el experimento se determinó la pigmentación cutánea de las aves antes y después del procesamiento, utilizando el colorímetro de reflectancia (Minolta CR 400), midiendo los valores de luminosidad, amarillamiento (b) en la piel de las aves sobre la zona aptérica lateral izquierda (región de la vena de la grasa de la pechuga) (Cortes *et al.* 2020).

El rendimiento en canal se determinó al día 49 de edad de las aves, bajo las condiciones comerciales del

módulo de procesamiento avícola del C.E.I.E.P.Av. Las aves se sometieron a un ayuno de 8 horas, con agua a libre acceso. La captura de las aves se hizo de acuerdo al método brasileño, posteriormente las aves se pesaron de manera individual antes de ser colgadas y aturdidas en la línea de procesamiento por un electro aturdimiento en tanque de agua (25Volts, 0.25Am y 460Hz), el método de sacrificio se hizo de manera manual por degüello bilateral (corte de las venas yugulares y arterias carótidas). Se pesaron las canales con y sin vísceras para determinar el rendimiento en canal.

#### Análisis estadístico

Antes del análisis estadístico se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para comprobar la normalidad de las muestras, así como la prueba de homogeneidad de varianzas Levene, para comprobar las condiciones

que supone la prueba del estadístico con una significancia del 5%.

Los datos obtenidos para los parámetros productivos, rendimiento de la canal y pigmentación amarilla de la piel, se compararon por medio de un análisis de varianza ANOVA, para un diseño factorial de 2 factores; siendo el primer factor el sexo y el segundo factor el nivel de proteína en la dieta.

En caso de encontrarse diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, se realizó una prueba de comparación de medias con la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5%.

Todo el análisis estadístico para las variables evaluadas en el siguiente estudio se analizó por el medio del paquete estadístico SSPS versión 17.

## RESULTADOS

### Parámetros productivos

Los resultados de los parámetros productivos en pollos de engorda Ross 308 a los 49 días de edad se muestran en el Cuadro 2. En cuanto al factor sexo, se aprecia que los machos presentaron mayor ( $P < 0.05$ ) ganancia de peso respecto a las hembras. En relación a los niveles de proteína se nota ( $P > 0.05$ ) que los resultados fueron similares. No se encontró efecto de interacción entre el sexo y el porcentaje de proteína ( $P > 0.05$ ).

Para el factor sexo se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), siendo superior el consumo de alimento (Tabla 2) en machos en comparación con las hembras. En consumo, no se encontraron diferencias para los niveles de proteína ( $P > 0.05$ ), ni

tampoco existió interacción entre el sexo y el nivel de proteína ( $P > 0.05$ ).

En conversión alimenticia es evidente (Tabla 2) que los machos presentaron ( $P < 0.05$ ) mejor conversión estadística; donde los machos obtuvieron una mejor conversión en comparación con las hembras. En la conversión alimenticia, no se encontraron diferencias para los niveles de proteína ( $P > 0.05$ ), ni tampoco existió interacción entre el sexo y el nivel de proteína ( $P > 0.05$ ).

Para los datos del porcentaje de mortalidad (Tabla 2) no existieron diferencias ( $P > 0.05$ ) para el nivel de proteína, sexo, ni efecto de interacción entre el sexo y el nivel de proteína.

### Rendimiento en canal

Los resultados de rendimiento en canal en pollos a los 49 días de edad se resumen en la Tabla 3. Se observa que para el factor sexo existió diferencia ( $P < 0.05$ ) donde los machos presentaron mayor peso vivo y de la canal fría en relación a las hembras. Sin embargo, el rendimiento como porcentaje de la canal fría fue similar entre sexos ( $P > 0.05$ ). También se aprecia que el peso vivo, porcentaje de rendimiento de la canal fría, no hubo efecto al nivel de proteína en la dieta ( $P > 0.05$ ), ni efecto de interacción entre el sexo y el nivel de proteína ( $P > 0.05$ ).

En el peso de la canal caliente, no mostró efecto ( $P > 0.05$ ) al nivel de proteína. En cuanto al factor sexo existió diferencia ( $P < 0.05$ ), donde los machos obtuvieron el mayor peso respecto a las hembras. Además, no se encontró efecto de interacción entre el sexo y el nivel de proteína ( $P > 0.05$ ).

**Tabla 2. Parámetros productivos en 49 días de experimentación en pollos de engorda alimentados con tres niveles de proteína cruda suplementada con aminoácidos sintéticos.**

Factor sexo	Factor proteína	Ganancia de peso (g)	Conversión alimenticia (g)	Índice de conversión (kg:kg)	Mortalidad (%)
Machos		3505a±88	6080a±266	1.73b±.08	7.16±3.69
Hembras		2983b±78	5320b±184	1.78a±.07	5.27±4.18
Probabilidad		0.000	0.000	0.041	0.181
	Balanceada	3290±296	5739±437	1.75±.06	6.63±3.27
	Menos 1%	3214±276	5778±453	1.80±.06	5.73±4.58
	Menos 2%	3228±277	5583±463	1.73±.09	6.29±4.34
Proteína	Probabilidad	0.060	0.096	0.059	0.865
Sexo*proteína		0.846	0.810	0.648	0.847
EEM		13.40	37.30	0.12	0.69

Diferentes letras dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ )

**Tabla 3. Rendimiento de la canal, peso vivo y peso de la canal caliente en 49 días de experimentación en pollos de engorda alimentados con tres niveles de proteína cruda suplementada con aminoácidos sintéticos.**

Factor sexo	Factor proteína	Peso vivo (g)	Peso canal caliente (g)	Rendimiento de canal (%)
Machos		3612a±115	2636a±91	73.00±0.87
Hembras		2977b±115	2164b±87	72.76±0.86
Probabilidad		0.000	0.000	0.397
	Balanceada	3336±329	2438±253	73.13±1.05
	Menos 1%	3273±317	2376±227	72.59±0.65
	Menos 2%	3274±400	2386±297	72.92±0.81
Proteína	Probabilidad	0.299	0.183	0.284
Sexo*proteína		0.223	0.230	0.174
EEM		18.75	14.21	0.14

Diferentes letras dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

### Pigmentación de la piel y grasa en la cavidad celómica

En la Tabla 4, se muestran los resultados de pigmentación de la piel en canal fría y el porcentaje de grasa en cavidad celómica. Los resultados promedio de pigmentación de la piel en canal fría indican que los factores sexo, nivel de proteína, así como la interacción sexo-proteína no influyó en el amarillamiento de la piel ( $P > 0.05$ ). Se puede notar que el porcentaje de grasa en cavidad celómica fue mayor en los machos en comparación con las hembras ( $P > 0.05$ ). En cuanto a los niveles de proteína se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ); las dietas con menos 1 y 2 % de PC presentaron un mayor porcentaje de grasa. No existió efecto de interacción entre el factor de proteína y el factor sexo ( $P < 0.05$ ).

### Integridad intestinal

Los datos obtenidos a los 21 días de edad, para altura de las vellosidades se pueden apreciar en el Cuadro 5. Los datos no mostraron diferencia ( $P > 0.05$ ) al factor sexo ni al factor proteína con longitud de las vellosidades similares entre tratamientos. Sin embargo, para la profundidad de cripta existió diferencia ( $P > 0.05$ ) al factor sexo con mayor profundidad en machos comparada con los hembras.

Los resultados a los 42 días de edad (Cuadro 6), para altura de las vellosidades mostraron diferencia ( $P < 0.05$ ) con vellosidades más largas en machos respecto a las hembras. Sin embargo, para el nivel de proteína no hubo diferencia ( $P > 0.05$ ) entre los tratamientos. Para la profundidad de cripta no existió diferencia ( $P > 0.05$ ) al factor sexo ni al factor proteína.

**Tabla 4. Pigmentación amarilla en canal fría y porcentaje de grasa celómica a los 49 días en pollos de engorda alimentados con tres niveles de proteína cruda suplementada con aminoácidos sintéticos.**

Factor sexo	Factor proteína	Pigmento canal fría (b)	Grasa (%)
Machos		40.42±4.65	5.20b±1.17
Hembras		40.39±3.57	6.17a±1.33
Probabilidad		0.841	0.001
	Balanceada	40.4±3.57	5.57a±1.25
	Menos 1%	40.0±4.32	6.87b±0.74
	Menos 2%	40.2±4.14	6.35b±0.86
Probabilidad			
Proteína		0.225	0.001
Sexo*proteína		0.991	0.141
EEM		0.37	0.14

Diferentes letras dentro de una misma columna indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0.05$ ).

**Tabla 5. Longitud de vellosidades y profundidad de criptas en duodeno en pollos a los 21 días de edad.**

Factor sexo	Factor proteína	Longitud de vellosidad (µm)	Profundidad de cripta (µm)
Machos		1791a	342a
Hembra		1771a	297b
	Balanceada	1805a	326a
	Menos 1%	1782a	333a
	Menos 2%	1768a	316a
Sexo		0.895	0.001
Proteína		0.920	0.906
Sexo*proteína		0.935	0.932
EEM		16.14	5.08

Diferentes letras dentro de una misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

**Tabla 6. Longitud de vellosidades y profundidad de criptas en duodeno en pollos a los 42 días de edad.**

Factor sexo	Factor proteína	Longitud de vellosidad (µm)	Profundidad de cripta (µm)
Machos		2203b	293a
Hembras		2028a	287a
	Balanceada	2154a	336a
	Menos 1%	2127a	335a
	Menos 2%	1121a	347a
Sexo		0.001	0.926
Proteína		0.901	0.898
Sexo x proteína		0.899	0.901
EEM		18.70	5.28

Diferentes letras dentro de una misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

## DISCUSIÓN

En la presente investigación, no se encontraron diferencias estadísticas para los niveles de proteína utilizados en la dieta durante las 4 fases de alimentación en ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia y porcentaje de mortalidad en 49 días de experimentación. La información obtenida concuerda en parte con lo obtenido por De Cesare *et al.* (2019) quienes no hallaron efecto en ganancia diaria de peso, consumo diario de alimento, conversión alimenticia y mortalidad en pollos de engorda Ross 308 alimentados con una dieta basal comparándola con la reducción del 7% del total de proteína cruda en diferentes fases de alimentación suplementadas con 3 aminoácidos sintéticos (DL-Metionina, sulfato de L-Lisina y L-Treonina). Estos autores concluyeron que los pollos alimentados con dietas bajas en proteína no tienen que ajustar su consumo de alimento para compensar la baja cantidad de proteína en el alimento.

Otras investigaciones como la de Hilliar *et al.* (2019) evaluaron en pollos machos Ross 308 de 10 a 35 días de edad el efecto de 3 niveles de proteína cruda para las fases de crecimiento (20%, 18.5% y 17%) y finalización (18%, 16.5% y 15%) suplementadas con aminoácidos cristalinos (acorde a la limitación de AA): D-L metionina, L-lisina SO<sub>4</sub>, L-treonina, L-

valina, L-arginina, L-isoleucina, L-fenilalanina L-leucina, L-histidina y L-triptófano, encontrando un efecto similar en todos los tratamientos para la ganancia de peso, la conversión alimenticia, la ganancia de peso final en los pollos y el porcentaje de viabilidad ( $P > 0.05$ ) excepto en el consumo de alimento en donde la dieta con menor cantidad de proteína mostró una menor ingesta de alimento ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, Awad *et al.* (2018) alimentaron hembras de la estirpe Cobb 500 del día 1 al 42, con dietas que contenían dos niveles de proteína: normal (inicio 222g/kg y crecimiento 195g/kg) y baja en proteína (inicio 173g/kg y crecimiento 147 g/kg) adicionada con AA sintéticos (L-Leu, L-Arg, L-Ile, L-Phe, L-His y Gly). A pesar de las diferencias en proteína; estos autores no encontraron diferencias al disminuir la cantidad de proteína en la mayoría de los parámetros productivos, ya que al suministrar las cantidades ideales de AA se obtuvo la misma ganancia de peso y conversión alimenticia que las aves alimentadas con proteína estándar (Hilliar *et al.*, 2019).

Barekatin *et al.* (2019) concuerdan en que no existe una diferencia en cuanto al consumo de alimento entre dietas bajas en proteína suplementadas con AEE (170g/kg) y dietas con un nivel estándar de proteína (220g/kg), pero las dietas bajas en proteína mostraron una alta conversión alimenticia con respecto a una dieta balanceada, mientras tanto Harn *et al.*, (2019)

señalaron que pollos de engorde en crecimiento con dietas reducidas de 2.2–2.3% de PC (22–23 g/kg), con una suplementación adecuada de aminoácidos (lisina, metionina, treonina, arginina, isoleucina, valina y glicina), no produjeron efectos adversos en el crecimiento de los pollos.

Macellini *et al.* (2019) reportaron que dietas bajas en proteína cruda tienen una ganancia promedio de peso y una conversión alimenticia con valores similares a pollos alimentados con dietas altas en proteína cruda.

Otras fuentes bibliográficas difieren con la presente investigación al reportar diferencias estadísticas al disminuir la cantidad de proteína cruda en la dieta, aun suplementándolas con aminoácidos esenciales respecto a una dieta basal, tal es el caso de Hilliar *et al.* (2019) concluyeron que las dietas reducidas en 3 puntos porcentuales de PC suplementada con 6 AA esenciales (HCL-Lisina, D,L Metionina, L-treonina, L-isoleucina, L-arginina y L-valina) durante la fase de crecimiento, causaron un mayor consumo de alimento y un incremento en la conversión alimenticia frente a una dieta estándar en proteína (suplementada solo con HCL-Lisina, D,L Metionina y L-treonina) también observaron diferencias para la fase de finalización donde las dietas reducidas en proteína, tuvieron un mayor índice de conversión alimenticia. En cuanto al porcentaje de mortalidad y la ganancia de peso no se encontraron diferencias significativas entre las dietas. La disminución en el rendimiento de los pollos de engorda con dietas bajas en proteína generalmente se debe a una disponibilidad reducida de aminoácidos, a pesar de la suplementación de AAE en la dieta (Hilliar *et al.*, 2019).

Cowieson *et al.* (2016) encontraron que los machos alimentados con una dieta baja en proteína cruda y aminoácidos digestible en 4% afectaron la ganancia de peso e incrementó el consumo de alimento y la conversión alimenticia comparada a una dieta estándar o balanceada en proteína y aminoácidos, y que estos resultados están relacionados a una baja administración de AA esenciales en la dieta para pollos de rápido crecimiento.

Hilliar y Swich (2019) en un trabajo de revisión bibliográfica concluyen que en la mayoría de los estudios los parámetros productivos de los pollos muestran diferencia cuando consumen dietas bajas en proteína comparadas con dietas balanceadas tales como la ganancia de peso corporal y la conversión alimenticia, con discrepancias en el consumo de alimento (sin cambios o con disminución del consumo) (Hilliar y Swich, 2019). Liu *et al.* (2017) observaron que el 76% de la variación en los resultados asociados a la conversión alimenticia se asocia a las tasas de digestión de almidón y proteínas.

El bajo rendimiento en los parámetros productivos en pollos tratados con dietas reducidas en proteína cruda aún suplementadas con AA cristalinos, se debe a la reducción de otros nutrientes que se encuentran presentes en los alimentos (sobre todo en las harinas proteicas) como AA no esenciales, compuestos de N no proteico, equilibrio de electrolitos, disponibilidad de minerales, fibra y carbohidratos, donantes de grupos metilo y polifenoles (Jariyahatthakij *et al.*, 2018; Hilliar y Swich, 2019) también las interacciones antagonistas de los AA pueden afectar el crecimiento de los pollos, algunos autores indican que un exceso de lisina en la dieta, puede disminuir la absorción de arginina causando un crecimiento deficiente y que un desbalance en las concentraciones de leucina en la dieta, pueden reducir las concentraciones musculares de isoleucina y valina, afectando también el crecimiento (Hilliar y Swich, 2019).

Varios investigadores sugieren que es mejor reducir la cantidad de proteína solamente en las dietas de desarrollo y finalización, debido a que a mayor edad de los pollos disminuyen su requerimiento de AA (Hilliar y Swich, 2019). Por otro lado, Cristal *et al.* (2019) explicaron que la biodigestibilidad de aminoácidos y de glucosa se realiza de forma bilateral, lo que puede impactar en el rendimiento productivo de los pollos de engorda.

### **Rendimiento en canal**

En esta investigación no se encontró efecto de interacción entre el nivel de proteína cruda y el sexo para el peso en vivo, peso de la canal y rendimiento de la canal. Harn *et al.* (2019), encontraron resultados similares a los del presente estudio sin encontrar efecto al disminuir la proteína cruda en la dieta (-1, -2 y -3%) suplementadas con AA sobre el peso vivo, peso de la canal o el rendimiento corporal de los pollos. Goo *et al.* (2019) y Madalindi *et al.* (2018) encontraron al igual que en el presente estudio, que el peso vivo y peso de la canal fue más alto en machos respecto a las hembras.

Chrystal *et al.* (2020) indican que la variabilidad en los resultados del rendimiento productivo se debe a diferentes factores como diferencias en las líneas genéticas de las aves, edad del ave y a la concentración de nutrientes utilizados en la formulación de las dietas. Además de otras variables como la dinámica digestiva en el cual la velocidad de digestión de proteínas y la tasa de absorción de péptidos tripéptidos y aminoácidos libres son distintas en dietas reducidas en proteína comparadas a una dieta convencional.



En este estudio, los porcentajes de grasa en la cavidad celómica fueron significativamente más alto en los pollos tratados con dietas bajas en proteína cruda, lo que concuerda con Aletor *et al.* (2000) y una revisión bibliográfica realizada por Harn *et al.* (2006) quienes encontraron que en todos los casos donde se disminuyó la proteína cruda se incrementó la cantidad de grasa corporal. Por otro lado, Jariyahatthakij *et al.* (2018), indican que al reducir la cantidad de proteína cruda en las dietas se incrementa la cantidad de grasa en los tejidos. Chrystal *et al.* (2020) mencionan en su investigación que una reducción de proteína cruda de 4 a 5% compromete el rendimiento de pollos de engorda y aumenta marcadamente la deposición de lípidos. Namroud *et al.* (2008) observaron que el aumento de grasa y el bajo rendimiento corporal en pollos alimentados con dietas reducidas en PC puede evitarse con la suplementación óptima de AEE y ANEE. Por otra parte, Hilliar y Swich, (2019) explicaron que los pollos que reciben dietas reducidas en PC suplementadas con AA sintéticos presentan un mayor depósito de grasa en los tejidos, debido a una alta biodisponibilidad de AA que ingresan desde el yeyuno a la vena porta; además también se genera un aumento en la absorción de almidón ya que existe una interacción entre la absorción de proteínas y almidón, promoviendo de manera potencial la lipogénesis.

En cuanto a la cantidad de grasa en la cavidad celómica asociada al sexo, las hembras depositaron más grasa que los machos en el presente estudio, lo que concuerda en parte con Atta *et al.* (2017) quienes obtuvieron resultados similares en pollos Cobb 500 durante 6 semanas de experimentación con mayor porcentaje de grasa en hembras respecto a los machos.

En la presente investigación se encontró que los machos y hembras tuvieron valores similares de pigmentación de la piel en canal fría, estos resultados no coinciden con lo informado por Chodová *et al.* (2021) quienes observaron que el amarillamiento de la piel en hembras fue mayor respecto al macho debido a que las hembras tuvieron mayor deposición de grasa en el tejido subcutáneo en comparación a los machos, tanto en aves de rápido crecimiento como en aves de mediano y lento crecimiento.

### **Integridad intestinal**

El empleo de dietas bajas en proteínas y su efecto en la integridad intestinal, en algunos estudios se han evaluado dietas bajas en proteína comparándolas con dietas estándar en proteína e isocalóricas en pollos machos, donde se encontró que dietas bajas en proteína provocó una disminución en la altura de la vellosidades en duodeno (Incharoen *et al.*, 2010), esto indicó que una dieta baja en proteína genera una

disminución en la síntesis de proteínas especialmente en intestino delgado afectando la morfología intestinal. Estos resultados coinciden en parte a los obtenidos en la presente investigación

Estudios realizados por Macelline *et al.* (2019) estudiaron 3 niveles de proteína cruda: alta (23.5 y 20.5%) y baja (18 y 17%) suplementada con AA (Met, Lys, Thr, Val, Ile, Arg, Trp, Gly y Ser), para cubrir los requerimientos de estos aminoácidos. Estos autores encontraron efecto sobre la altura de las vellosidades y profundidad de la cripta, en donde las aves alimentadas con la dieta alta en proteína y baja en proteína suplementada con AA fueron mejores ( $P < 0.05$ ) respecto a las dietas bajas en proteína, sin efecto de los niveles de proteína sobre la relación entre la altura de las vellosidades con la profundidad de la cripta. Datos que coinciden con los obtenidos en el presente trabajo

Por otro lado, Cowieson *et al.* (2016) compararon dos dietas control positivo que cubría los requerimientos de proteína y un control negativo reducida en 4% de proteína cruda y aminoácidos digestibles. De igual manera estos autores no encontraron diferencias sobre la altura de vellosidades, profundidad de cripta, grosor epitelial o número de células Globet en pollos de engorda machos, De igual manera, Barekatin *et al.* (2019) investigaron 3 niveles de proteína: alta, baja y estándar en pollos Ross de 9 a 35 días. Los resultados obtenidos no indicaron diferencias en la altura de la vellosidad, la profundidad de la cripta o en la relación entre la altura de las vellosidades y la profundidad de la cripta en yeyuno e íleon.

Otros investigadores, indican el efecto negativo de dietas muy bajas en proteína sobre la arquitectura intestinal puede ser atribuida a la reducción de AANE como glutamina, glicina y prolina, necesarios en desarrollo del epitelio intestinal y en la producción de secreciones digestivas como la mucina (Macellini *et al.*, 2019). En otros estudios como el de Barekatin *et al.* (2019) indican que no existe diferencia sobre la integridad intestinal en dietas con diferentes niveles de proteína si son suplementadas con aminoácidos sintéticos.

### **CONCLUSIONES**

La disminución de proteína a partir de la pasta de soya en las cuatro fases de alimentación no afectó el rendimiento productivo en hembras y machos ni el rendimiento de la canal. El contenido de grasa de la canal fue mayor en los machos respecto a las hembras. La reducción de proteína en la dieta de los pollos, no afectó la integridad intestinal, la longitud de las vellosidades, ni la profundidad de la cripta.

### Agradecimientos

Los autores agradecemos ampliamente a los doctores Jorge Miguel Iriarte y Alma Vázquez Delgado por la asistencia técnica en el procesamiento de las aves en el rastro tipo comercial y por la obtención de los datos de rendimiento de las canales utilizadas para realizar análisis estadísticos para la escritura del presente artículo.

**Funding:** The study was financed by the Evonik Company of Mexico and the CEIEPAv of the FMVZ-UNAM.

**Conflict of interest:** There is no conflict of interest on both sides (Evonik de México and CEIEPAv).

**Compliance with ethical standards:** Official standards for humane treatment of animals, established by the FMVZ-UNAM CICUAE committee for all research carried out on animals, were complied with.

**Data availability:** Dataset are available with the corresponding author upon reasonable request.

**Author Contribution Statement (CRediT):** A **Hernández-Huesca** - Investigation, A **Cortes-Cuevas** -Conceptualization and Methodology, M **Juárez Ramírez** - Resources, J **Arce Menocal** - Data curation, M **Margarito-Romero** – Investigation, Formal analysis, E **Ávila González** - Formal analysis and Project administration.

### REFERENCES

- Aletor, V.A., Hamid, I., Nieß, E. and Pfeffer, E., 2000. Low-protein amino acid-supplemented diets in broiler chickens: effects on performance, carcass characteristics, whole-body composition and efficiencies of nutrient utilisation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(5), pp.547-554. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(200004\)80:5<547::AID-JSFA531>3.0.CO;2-C](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(200004)80:5<547::AID-JSFA531>3.0.CO;2-C)
- Awad , E.A., Idrus, Z., Soleimani, A.F., Bello, A.U. and Jahromi, M.F., 2018. Growth performance, duodenal morphology and the caecal microbial population in female broiler chickens feed glycine-fortified low protein diets under heat stress conditions. *British Poultry Science*, 59(3), pp.340-348. <https://doi.org/10.1080/00071668.2018.1440377>
- Barekattain , R., Nattrass, G., Tilbrook, A.J., Chousalkar , K. and Gilani, S., 2019. Reduced protein diet and amino acid concentration after intestinal barrier function and performance of broiler chickens with or without synthetic glucocorticoid. *Poultry Science*, 98(9), pp.3662-3675. <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pey563>
- Chrystal , P.V., Moss, A.F., Khoddami, A., Naranjo, V.D., Selle, P.H. and Liu, S.Y., 2020. Effects of reduced crude protein levels, dietary electrolyte balance, and energy density on the performance of broiler chickens offered maize-based diets with evaluations of starch, protein, and amino acid metabolism. *Poultry Science*, 99(3), pp.1421-1431. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.10.060>
- Chrystal, P.V., Moss, A.F., Yin, D., Khoddami, A., Naranjo, V.D., Sellea, P.H. and Liu, S.Y., 2019. Glycine equivalent and threonine inclusions in reduced-crude protein, maize-based diets impact on growth performance, fat deposition, starch-protein digestive dynamics and amino acid metabolism in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 261, pp.1-14. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114387>
- Corzo , A., Loar , I.R., Kidd, M.T. and Burgess, S.C., 2011. Dietary protein effects on growth performance, carcass traits and expression of selected jejunal peptide and amino acid transporters in broiler chickens. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 13(2), pp.139-146. <https://doi.org/10.1590/S1516-635X2011000200008>
- Cowieson, A.J., Zaefarian, F., Knap, I. and Ravindran, V., 2016. Interactive effects of dietary protein concentration, a mono-component exogenous protease and ascorbic acid on broiler performance, nutritional status and gut health. *Animal Production Science*, 57(6), pp.1058-1068. <http://dx.doi.org/10.1071/AN15740>
- De Cesare , A., Faria, V. I., Sala, C., Sirri, F., Astolfi, A., Castellani, G. and Manfreda, G., 2019. Effect of a low protein diet on chicken ceca microbioma and productive performances. *Poultry Science*, 98, pp.3963-3976. <https://doi.org/10.3382/ps/pez132>
- Cortes C.A., Arce M.J., Avila G.E. and López C.C., 2019. Phosphorus bioavailability, amino acid digestibility and metabolizable energy of broiler chick diets supplemented with low-oil

- distillers dried grains with solubles. *Veterinaria México*, 6, pp.1-12. <http://dx.doi.org/10.22210/fmvz.24486760e2019.3.543>
- Garcia, R.A., 2012. Rendimiento productivo y de la canal en dos estirpes de pollo de engorda alimentados con dietas sorgo-soya con diferentes porcentajes de proteína. [tesis de licenciatura]. DF, (MX): Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
- Goo , D., Kim, J. H., Choi , H.S., Park , G.H., Han , G.P. and Kil , D.Y., 2019. Effect of stocking density and sex on growth performance, meat quality, and intestinal barrier function in broiler chickens. *Poultry Science*, 98(3), pp.1153-1160. <https://doi.org/10.3382/ps/pey491>
- Hilliar , M. and Swich , R.A., 2019. Nutritional implications of feeding reduced-protein diets to meat chickens. *Animal Production Science*, 59, pp.2069-2081. <https://doi.org/10.1071/AN19221>
- Hilliar, M., Hargreave, G., Girish , C.K., Barekatin, R., Wu, S.B. and Swick, R.A., 2019. Using crystalline amino acids to supplement broiler chicken requirements in reduced protein diets. *Poultry Science*. 99(3), pp.1551-1563. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.12.005>
- Jariyahatthakij, P., Chomtee, B., Poeikhampha, T., Loongyai, W. and Bunchasak, C., 2018. Methionine supplementation of low-protein diet and subsequent feeding of low-energy diet on the performance and blood chemical profile of broiler chickens. *Animal Production Science*, 58(5), pp.878-885. <http://dx.doi.org/10.1071/AN16258>
- Leinonen , I., Williams , A.G. and Kyriazakis, I., 2014. The effects of welfare-enhancing system changes on the environmental impacts of broiler and egg production. *Poultry Science*, 93(2), pp.256-266. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03252>
- Liu, L., Liao, X. and Luo, X., 2017. Nutritional strategies for reducing nitrogen, phosphorus and trace mineral excretions of livestock and poultry. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(12), pp.2815-2833. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61701-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61701-5)
- Macelline, S.P., Wickramasuriya, S.S., Cho, H.M., Kim, E., Shin, T.K., Hong, J.S., Kim, J.C., Pluske, J.R., Choi, H.J., Hong, Y.G. and Heo, J.M., 2019. Broilers fed a low protein diet supplemented with synthetic amino acids maintained growth performance and retained intestinal integrity while reducing nitrogen excretion when raised under poor sanitary conditions. *Poultry Science*, 99(2), pp.949-958. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2019.10.035>
- Madilindi , M.A., Mokobane , A., Letwaba , P.B., Tshilate , T.S., Banga , C.B., Rambau , M.D., Bhebhe, E. and Benyi, K., 2018. Effects of sex and stocking density on the performance of broiler chickens in a sub-tropical environment. *South African Journal of Animal Science*, 48(3), pp.459-468. <https://doi.org/10.4314/sajas.v48i3.6>
- Malheiros, R.D., Moraes, V.B., Collin, A., Janssens, G.J., Decuyper, E. and Buyse, J., 2003. Dietary macronutrients, endocrine functioning and intermediary metabolism in broiler chickens: Pairwise substitutions between protein, fat and carbohydrate. *Nutrition Research*, 23(4), pp.567-578. [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(03\)00022-8](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(03)00022-8)
- Namroud, N.F., Shivazad, M. and Zaghari, M., 2008. Effects of Fortifying Low Crude Protein Diet with Crystalline Amino Acids on Performance, Blood Ammonia Level, and Excreta Characteristics of Broiler Chicks. *Poultry Science*, 87(11), pp.2250-2258. <https://doi.org/10.3382/ps.2007-00499>
- Rama Raoa, S.V., Rajua, M.L., Pandaa, A.K., Poonama, N.S., Moorthya, O.K., Srilatha, T. and Shyam Sundera, G., 2011. Performance, carcass variables and immune responses in commercial broiler chicks fed graded concentrations of threonine in diet containing sub-optimal levels of protein. *Animal Feed Science and Technology*, 169(3-4), pp.218-223. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.06.013>
- Rochell, S.J., Helmbrecht, A., Parsons, C.M. and Dilger, R.N., 2016. Influence of dietary amino acid reductions and *Eimeria acervulina* infection on growth performance and intestinal cytokine responses of broilers fed low crude protein diets. *Poultry Science*,

- 95(11), pp.2602–2614.  
<https://doi.org/10.3382/ps/pew153>
- Si, J., Fritts, C.A., Waldroup, P.W. and Burnham, D.J., 2004. Effects of Excess Methionine from Meeting Needs for Total Sulfur Amino Acids on Utilization of Diets Low in Crude Protein by Broiler Chicks. *Journal of Applied Poultry Research*, 13(4), pp.579-587. <https://doi.org/10.1093/japr/13.4.579>
- Sirri, F., M.A., Sirri, F. and Meluzzi, A., 2012. Effect of sequential feeding on nitrogen excretion, productivity, and meat quality of broiler chickens. *Poultry Science*, 91(2), pp.316-321. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01649>
- Yin, D., Chrystal, P.V., Moss, A.F., Liu, S.Y., Yuana, J. and Selle, P.H., 2020. Effects of reducing dietary crude protein and whole grain feeding on performance and amino acid metabolism in broiler chickens offered wheat-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 260, pp.1-13. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114386>