

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
SETOR DE ENGENHARIAS, CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

LETÍCIA GALVÃO MATOSO

USO DE COLINA PARA SUÍNOS EM CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO

PONTA GROSSA

2024

LETÍCIA GALVÃO MATOSO

USO DE COLINA PARA SUÍNOS EM CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO

Dissertação apresentada para  
obtenção do título de Mestre em  
Zootecnia na Universidade  
Estadual de Ponta Grossa,  
Zootecnia (Produção Animal).

Orientadora: Prof. Dra. Cheila  
Roberta Lehen

PONTA GROSSA

2024

M433 Matoso, Letícia Galvão  
    Uso de colina para suínos em crescimento e terminação / Letícia Galvão  
    Matoso. Ponta Grossa, 2024.  
    50 f.

    Dissertação (Mestrado em Zootecnia - Área de Concentração: Produção  
    Animal), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

    Orientadora: Profa. Dra. Cheila Roberta Lehnen.

    1. Colina. 2. Metionina. 3. Desempenho. 4. Carcaça - Características. 5.  
    Variáveis sanguíneas. I. Lehnen, Cheila Roberta. II. Universidade Estadual de  
    Ponta Grossa. Produção Animal. III.T.

    CDD: 636



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bairro Uvaranas - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR - <https://uepg.br>

## **TERMO**

### **TERMO DE APROVAÇÃO**

**LETÍCIA GALVÃO MATOSO**

### **“USO DE COLINA PARA SUÍNOS EM CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Zootecnia – Mestrado em Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias e Tecnologia da Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Ponta Grossa, 22 de janeiro de 2024.

Profa. Dra. Cheila Roberta Lehnen – (UEPG)  
Presidente

Profa. Dra. Ines Andretta - (UFRGS)  
Membro Externo

Prof. Dr. Luciano Hauschild – (UNESP)  
Membro Externo



Documento assinado eletronicamente por **Adriana Aparecida Telles, Secretário(a)**, em 20/12/2023, às 09:32, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Cheila Roberta Lehen, Professor(a)**, em 16/02/2024, às 09:37, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **ines andretta, Usuário Externo**, em 16/02/2024, às 11:01, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **Luciano Hauschild, Usuário Externo**, em 16/02/2024, às 19:32, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.uepg.br/autenticidade> informando o código verificador **1776257** e o código CRC **426C3D83**.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Dra. Cheila Roberta Lehnen, por toda atenção, acolhimento, paciência, carinho comigo durante esses anos.

À minha família em especial a minha mãe e irmãs, que também foram de fundamental importância para essa caminhada.

Ao meu namorado, que sempre me incentivou e amparou durante a graduação e pós-graduação;

À Universidade Estadual de Ponta Grossa e programa de pós-graduação em zootecnia pela oportunidade da realização do mestrado.

À CAPES pelo auxílio financeiro através da bolsa de mestrado; A todos que contribuíram de forma direta ou indireta com este trabalho.

À empresa Agrocerec Multimix que possibilitou a realização do projeto, em especial a Clarice Speridiao Silva Neto e ao Felipe Norberto Alves Ferreira, por todo o suporte durante o planejamento e execução.

Aos colaboradores do Granja Paraíso e do Centro de Pesquisa Agrocerec, que dedicaram tempo e atenção ao meu projeto.

Aos colegas do grupo Biomodel, pelos ensinamentos e companheirismo, em especial ao aluno Fernando Bittarello que topou o desafio de ajudar no projeto.

## RESUMO

A colina é um nutriente essencial para o metabolismo intermediário, porém sua utilização para suínos ainda é pouco explorada na literatura. Este estudo tem o objetivo de explorar *in silico* e *in vivo* o uso da colina sobre o desempenho de suínos em crescimento e terminação. No estudo de revisão sistemática e meta-análise foram compilados 8 estudos publicados entre 1998 e 2021, totalizando 1918 animais distribuídos em 35 tratamentos. As informações foram agrupadas em dieta basal (DB) e fontes de colina (COL). A conversão alimentar apresenta correlação negativa com a suplementação de colina e ganho de peso ( $P < 0,05$ ). Suplementação com colina em dietas para suínos em crescimento e terminação não altera o desempenho ( $P > 0,05$ ). A falta de informações na base de dados limitou explorar efeitos como fontes e níveis de colina para suínos em crescimento e terminação. Com base nestes resultados um experimento *in vivo* foi delineado. Este estudo teve como objetivo analisar a interação da suplementação da colina e metionina para suínos em crescimento e terminação. O experimento contemplou 1730 animais (machos e fêmeas), sendo um fatorial  $4 \times 2 \times 2$  com quatro níveis de colina (0, 300, 500 e 700 ppm) e dois níveis de metionina (NRC (2012) e 15% inferior a exigência do NRC (2012) - -15%NRCmet). Não houve efeito da colina sobre o desempenho de suínos em crescimento e terminação ( $P > 0,05$ ). O ganho de peso diário apresentou diferença entre os tratamentos que atendiam ao nível de metionina pelo NRC, sendo 4% superior em relação ao -15%NRCmet ( $P < 0,001$ ). Machos castrados ganharam 8,9% mais peso do que as fêmeas ( $P < 0,001$ ). A suplementação de colina associada a dietas com -15%NRCmet apresentarem níveis inferiores de colesterol total no sangue ( $P < 0,05$ ). A colina associada -15%NRCmet diminui a espessura de toucinho de suínos terminados ( $P < 0,05$ ). A suplementação com colina diminui o número de células inflamatórias e infiltrados nos hepatócitos ( $P < 0,050$ ). A suplementação de colina em dietas de suínos em crescimento e terminação não altera o desempenho, porém diminui a espessura de toucinho na carcaça. Uso de colina diminui os níveis de colesterol total e a resposta inflamatória hepática em suínos na terminação.

**Palavras-chave:** colina, metionina, desempenho, características de carcaça, variáveis sanguíneas.

## ABSTRACT

Choline is an essential nutrient for intermediary metabolism, but its use in pigs is still little explored in the literature. This study aims to explore *in silico* and *in vivo* the use of choline on the performance of growing and finishing pigs. In the systematic review and meta-analysis study, 8 studies published between 1998 and 2021 were compiled, totaling 1918 animals distributed across 35 treatments. The information was grouped into basal diet (DB) and choline sources (COL). Feed conversion has a negative correlation with choline supplementation and weight gain ( $P < 0.05$ ). Choline supplementation in diets for growing and finishing pigs does not alter performance ( $P > 0.05$ ). The lack of information in the database limited exploring effects such as sources and levels of choline for growing and finishing pigs. Based on these results, an *in vivo* experiment was designed. This study aimed to analyze the interaction of choline and methionine supplementation for growing and finishing pigs. The experiment included 1730 animals (males and females), being a 4x2x2 factorial with four levels of choline (0, 300, 500 and 700 ppm) and two levels of methionine (NRC (2012) and 15% lower than the NRC requirement (2012) - -15%NRCmet). There was no effect of choline on the performance of growing and finishing pigs ( $P > 0.05$ ). Daily weight gain showed a difference between treatments that met the NRC methionine level, being 4% higher compared to -15%NRCmet ( $P < 0.001$ ). Castrated males gained 8.9% more weight than females ( $P < 0.001$ ). Choline supplementation associated with diets with -15%NRCmet showed lower levels of total cholesterol in the blood ( $P < 0.05$ ). The associated choline -15%NRCmet decreases the backfat thickness of finished pigs ( $P < 0.05$ ). Choline supplementation decreases the number of inflammatory cells and infiltrates in hepatocytes ( $P < 0.050$ ). Choline supplementation in diets of growing and finishing pigs does not alter performance, but it decreases the thickness of backfat in the carcass. Use of choline decreases total cholesterol levels and hepatic inflammatory response in finishing pigs.

**Keywords:** choline, methionine, performance, carcass characteristics, blood parameters.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Estrutura da colina, acetilcolina e fosfatidilcolina (lecitina).....	13
Figura 2- Processo de formação da fosfatidilcolina.....	14
Figura 3- Esquema ilustrando o ciclo da metionina.....	15
Figura 4- Esquema do metabolismo da colina.....	17
Figura 5- Diagrama de PRISMA de estudos identificados e incluídos para síntese qualitativa e quantitativa de estudos sobre a suplementação de fontes de colina para suínos.....	27
Figura 6- Ganho de peso de suínos em crescimento e terminação suplementados com dietas contendo colina (a), forest plot do efeito da colina sobre o ganho de peso (b) e distribuição dos artigos para análise da colina sobre o ganho de peso de suínos em crescimento e terminação.....	30
Figura 7- Estudo de correlações entre as variáveis resposta de suínos em crescimento e terminação suplementados com colina.....	31
Figura 8- Efeito da suplementação de colina na espessura de toucinho de suínos.....	42
Figura 9-Contagem de células inflamatórias no fígado de suínos suplementados com diferentes níveis de colina e metionina.....	43
Figura 10-Escore de infiltrados hepatócitos no fígado de suínos suplementados com diferentes níveis de colina e metionina.....	44
Figura 11-Seções histológicas do fígado de suínos terminados alimentados com dietas com diferentes níveis de colina e metionina.....	44

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Níveis de suplementação de vitaminas para rações de suínos (quantidade por kg de ração).....	16
Tabela 2- Efeito das fontes de colina sobre o desempenho de leitões em creche e suínos em crescimento e terminação.....	20
Tabela 3- Composição nutricional, médias ajustadas de dietas experimentais para leitões em crescimento/terminação suplementados com diferentes níveis de colina.....	25
Tabela 4- Avaliação da qualidade dos artigos de acordo com os critérios estabelecidos.....	28
Tabela 5- Consumo médio diário, ganho médio diário e conversão alimentar de suínos em crescimento terminação suplementados com colina.....	32
Tabela 6- Descrição dos tratamentos utilizados na alimentação de suínos em crescimento e terminação suplementados com nível recomendado de metionina pelo NRC e 15% abaixo do nível recomendado de metionina pelo NRC.....	37
Tabela 7- Descrição dos tratamentos utilizados na alimentação de suínos em crescimento e terminação suplementados com 0 e 700 ppm de cloreto de colina e o nível recomendado de metionina pelo NRC e 15% abaixo do nível recomendado de metionina pelo NRC.....	37
Tabela 8- Médias ajustadas a partir do modelo de efeitos mistos do desempenho de suínos em crescimento e terminação alimentados com dietas suplementadas com colina e metionina.....	40
Tabela 9- Perfil hematológico e bioquímico sérico de suínos alimentados com dieta contendo diferentes níveis de colina e metionina.....	41
Tabela 10- Características de carcaça de suínos alimentados com dieta contendo ou não colina.....	42

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 - ESTUDO BIBLIOGRÁFICO.....</b>	<b>11</b>
1.1 CARACTERIZAÇÃO DAS VITAMINAS .....	11
1.2 BIOQUÍMICA E METABOLISMO.....	13
1.3 FUNÇÕES.....	16
1.4 EXIGÊNCIA E DEFICIÊNCIA.....	16
1.5 RELAÇÃO ENTRE COLINA E METIONINA .....	17
1.6 DESEMPENHO.....	18
1.7 REVISÃO SISTEMÁTICA .....	18
1.8 HIPÓTESES.....	19
REFERÊNCIAS .....	21
<b>CAPÍTULO 2 - META-ANÁLISE DA SUPLEMENTAÇÃO DE COLINA PARA SUINOS EM CRECHE, CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO. ....</b>	<b>23</b>
2.1 INTRODUÇÃO .....	23
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	23
2.2.1 Sistematização das Informações: Seleção dos Artigos.....	23
2.2.2 Gerenciamento de Banco de Dados, Codificação e Filtragem dos Dados .....	24
2.2.3 Análise Estatística .....	26
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	26
2.3.1 Resultados da Busca de Literatura .....	26
2.3.2 Descrição da Base de Dados .....	27
2.3.3 Revisão Sistemática.....	28
2.3.4 Desempenho.....	29
2.5 CONCLUSÃO .....	33
REFERÊNCIAS .....	33
<b>CAPÍTULO 3 - INTERAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE COLINA E METIONINA PARA SUÍNOS EM CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO. ....</b>	<b>35</b>
3.1 INTRODUÇÃO .....	35
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	35
3.2.1 Animais, Alojamento e Manejo .....	35
3.2.2 Dietas Experimentais e Manejo Alimentar .....	36
3.2.3 Respostas Avaliadas.....	37
3.2.3.1 Desempenho.....	37
3.2.3.2 Variáveis sanguíneas .....	38
3.2.3.3 Características de carcaça.....	38

3.2.3.4 Morfologia do fígado .....	38
3.2.3.5 Análises estatísticas.....	39
3.3 RESULTADOS.....	39
3.3.1 Desempenho .....	39
3.3.2 Variáveis Sanguíneas .....	40
3.3.3 Características de Carcaça.....	42
3.3.4 Morfologia do Fígado.....	43
3.4 DISCUSSÃO.....	45
3.5 CONCLUSÃO .....	48
REFERÊNCIAS .....	49

## CAPÍTULO 1 - ESTUDO BIBLIOGRÁFICO

### INTRODUÇÃO

A suinocultura desempenha um papel importante na segurança alimentar, contribuindo com uma fonte de proteína acessível e de alta qualidade para a dieta humana. Globalmente, países como China, Estados Unidos, Brasil e Alemanha são líderes na produção de suínos, com sistemas de criação variados. No Brasil, a suinocultura também é um setor significativo, com uma produção que atende tanto ao mercado interno quanto à exportação, impulsionada pela eficiência produtiva e pela qualidade da carne suína brasileira.

A alimentação adequada dos suínos é essencial para garantir seu crescimento, saúde e bem-estar, além de influenciar diretamente a qualidade da carne produzida. A formulação de dietas balanceadas, que atendam às necessidades nutricionais específicas desses animais em diferentes estágios de crescimento, é um aspecto crítico na produção suína. A compreensão dos princípios de nutrição, incluindo o equilíbrio de proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais, é fundamental para otimizar o desempenho e a rentabilidade da criação.

As vitaminas são componentes vitais para o funcionamento adequado do metabolismo dos suínos, desempenhando papéis críticos no sistema imunológico, no desenvolvimento ósseo, na reprodução e na conversão eficiente dos nutrientes da dieta em crescimento muscular. Os suínos têm necessidades específicas de vitaminas em diferentes estágios de crescimento, e a suplementação adequada é crucial para prevenir deficiências que podem levar a problemas de saúde, como raquitismo, distúrbios reprodutivos e doenças. Portanto, a formulação de dietas balanceadas que atendam às exigências de vitaminas dos suínos é fundamental para a produção suína bem-sucedida e economicamente viável.

A colina é uma vitamina utilizada nas rações de suínos, principalmente nas fases de reprodução, crescimento e terminação. Possui função importante para o crescimento, desenvolvimento e metabolismo lipídico em animais. Porém, os ganhos na produção com a utilização desta vitamina são pouco explorados pela literatura. Diante disso, o objetivo desta dissertação foi explorar *in silico* e *in vivo* o uso da colina sobre o desempenho de suínos em crescimento e terminação.

### 1.1 CARACTERIZAÇÃO DAS VITAMINAS

Vitaminas são substâncias essenciais ao metabolismo normal dos seres vivos e contribuem para o crescimento e manutenção da saúde. Esses nutrientes devem estar presentes

na dieta, já que grande parte das vitaminas não são sintetizadas pelo organismo (Moreno et al., 2012). De uma forma ampla pode ser afirmado que as vitaminas são precursoras de coenzimas, assim como hormônios, ou apresentam ação antioxidante (Rutz, Anciuti e Maier, 2014). Ainda segundo Rutz, Anciuti e Maier (2014) o papel metabólico desses nutrientes é mais complexo que o de outros. As vitaminas não são unidades estruturais ou fontes de energia, mas mediadoras, ou participantes de reações bioquímicas fundamentais. Além disso, são um grupo de compostos orgânicos que não se ajustam à classificação de macronutrientes.

As vitaminas são classificadas em lipossolúveis (solúveis em lipídios e solventes orgânicos – vitaminas A, D, E e K) e hidrossolúveis (solúveis em água - vitaminas do complexo B e vitamina C). A presença e concentração dessas substâncias variam entre os alimentos, e a disponibilidade é afetada por diversos fatores, como a interação com outros compostos. As exigências dos suínos também são afetadas por diversos fatores, como o potencial genético, fase de criação e presença de doenças (Rutz, Anciuti e Maier, 2014). A deficiência de vitaminas não se manifesta imediatamente, podendo levar semanas e até meses para serem observados sinais de carência (Rutz, Anciuti e Maier, 2014).

As vitaminas lipossolúveis são compostos constituídos de unidades de isopreno e desempenham papéis essenciais no metabolismo ou na fisiologia dos animais. São encontradas na fase lipídica nos alimentos e sua absorção intestinal está regulada pelos mesmos mecanismos de absorção de lipídeos. Exceto pela vitamina K, as vitaminas lipossolúveis podem ser armazenadas, principalmente no fígado. A vitamina A fornece o pigmento fotossensível dos olhos dos vertebrados e é um regulador de expressão gênica durante o crescimento das células epiteliais. A vitamina D é precursora de um hormônio que regula o metabolismo do Ca. A vitamina E funciona na proteção dos lipídeos de membrana contra o dano oxidativo, e a vitamina K é essencial no processo de coagulação sanguínea. Estas vitaminas podem se acumular e, ocasionalmente em casos de excesso, podem causar transtornos (Gonzales e Silva, 2019).

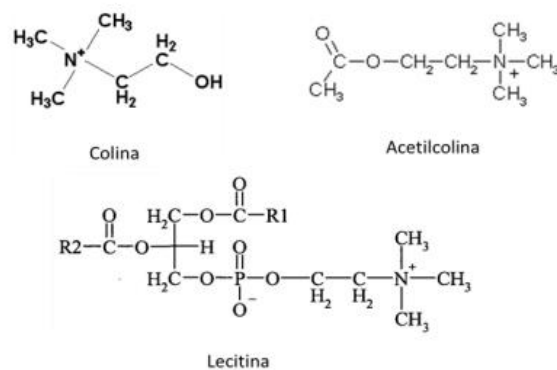
As vitaminas hidrossolúveis constituem um grupo de compostos estruturais e funcionalmente independentes que compartilham a característica de serem essenciais para o metabolismo animal, participando como coenzimas. De maneira geral (salvo a cianocobalamina), não são armazenadas em quantidades significativas no organismo, sendo o excesso rapidamente excretado via urinária, o que leva muitas vezes a necessidade de um suprimento diário dessas vitaminas (Mcdowell, 2014).

A colina tem sido classificada como vitamina do complexo B. Pode ser sintetizada pelo fígado e é requerida em grandes quantidades, uma vez que faz parte da estrutura da maior parte dos fosfolípidos (> 50%) das membranas animais e do neurotransmissor acetilcolina. Diferente das demais vitaminas, a colina não participa de processos no organismo como coenzima. A colina foi isolada por Streker, em 1849, na bile de suínos a partir da lecitina (fosfatidil-colina). Mais tarde, em 1867, foi estabelecida a sua estrutura química por Bayer e em 1929 foi determinado o seu papel essencial na formação da acetilcolina. Na década de 1920 foi observado o potencial da colina na prevenção de lipidose hepática em cães, com privação de insulina, atribuindo desde então sua característica como “fator lipotrópico” (Graciano et al., 2010).

## 1.2 BIOQUÍMICA E METABOLISMO

A estrutura da colina é uma amônia ligada a 3 grupos metila, que confirmam sua capacidade como doadora de grupos metila, além de estar unida a um grupo hidroxietila. A acetilcolina é um ácido acético com ligação éster de colina e a lecitina é um fosfoglicerídeo com uma colina ligada no C3. É um cristal branco muito solúvel em água e em álcool. A colina pura é um líquido viscoso e fortemente alcalina, com estabilidade higroscópica (Mcdowell, 2014).

Figura 1- Estrutura da colina, acetilcolina e fosfatidilcolina (lecitina).



Fonte: Adaptado Assunção e Filho, 2005.

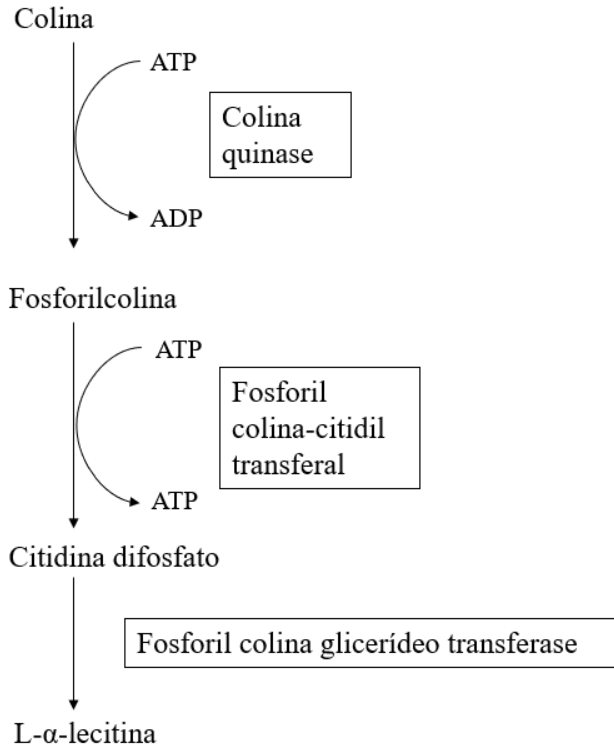
A colina pode ser obtida na dieta a partir do consumo de fosfolípidos que a contenham. Os requerimentos são bem maiores do que a maioria das vitaminas, estando em torno de 2.000 ppm na dieta. A colina está presente em todos os tecidos como componente dos

fosfolipídeos de membrana e sua liberação nas células ocorre por ação da fosfolipase C, que quebra a lecitina para render diacilglicerol e fosfocolina (Mcdowell, 2014).

Apesar da síntese de colina ocorrer na maioria dos tecidos animais, principalmente no fígado, pode não ser em quantidades suficientes necessárias aos processos do organismo, sobretudo quando seus precursores (metionina, vitamina B12 e folacina) forem deficitários. A colina é sintetizada como lecitina nos tecidos, porém, antes deve ser convertida em colina ativa. A molécula de colina é fosforilada pela enzima colina quinase utilizando um ATP como doador de fosfato. Este é o primeiro processo para síntese de fosfadilcolina (lecitina), que ocorre em vários tecidos (Combs Jr, 2008).

A fosfadilcolina é um elemento estrutural nas membranas, necessária para a formação da estrutura celular (figura 2). Participa da absorção e transporte de lipídeos ao fígado e mobilização das gorduras hepáticas. A maior parte da fosfatidilcolina ingerida é absorvida como lisolecitina (produto da ação da lípase pancreática), através da reciclagem no enterócito pelo metabolismo microbiano (Combs Jr, 2008).

Figura 2 - Processo de formação da fosfatidilcolina.



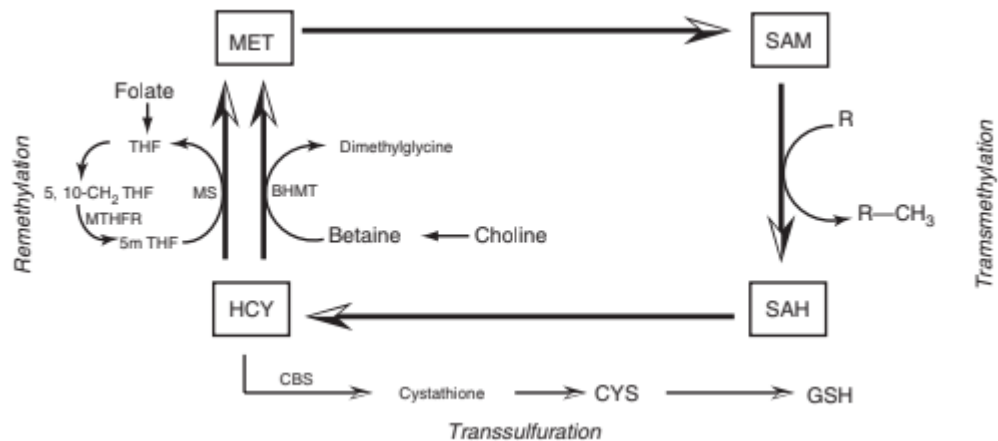
Fonte: COMBS JR, 2008.



Apenas uma pequena quantidade da colina é acetilada com acetil-CoA para produzir acetilcolina. A acetilcolina é um importante neurotransmissor mediador da atividade nervosa, produzido a partir do ácido acético e colina. Através da reação enzima colina- acetiltransferase (coenzima A) com o ácido acético é gerado a acetil-CoA. A acetil-CoA acetila a colina formando a acetilcolina. O processo inverso pode ocorrer facilmente no organismo através da ação da acetilcolinesterase (Cronje, 2016).

A colina em si não pode ser utilizada como doadora de grupos metil. Primeiramente ela deve ser oxidada em betaína, para então ser uma fonte de grupos metílicos para processos de transmetilação como a síntese de metionina (figura 3) (Cronje, 2016).

Figura 3 - Esquema ilustrando o ciclo da metionina.



BHMT, betaína-homocisteína metiltransferase; CBS, cistationina b-sintase; HCY, homocisteína; CYS, cisteína; GSH, glutatona; MET, metionina; MS, metionina sintase; MTHFR, 5,10-metilenotetrahidrofolato redutase; SAH, S-adenosil-homocisteína; SAM, S-adenosilmetionina; THF, tetrahidrofolato. Fonte: Cronje, P. B. Essential role of methyl donors in animal productivity. **Animal Production Science**, 2016.

A absorção de colina ocorre no jejuno e íleo por três sistemas de transporte: (1) transportador de alta afinidade  $\text{Na}^{+}$ - dependente que também fornece colina para a síntese de acetilcolina em neurônios colinérgicos; (2) por transportadores de baixa afinidade  $\text{Na}^{+}$ - independente da família dos transportadores de cátions orgânicos e por (3) difusão passiva (Combs Jr, 2008).

Apenas um terço da colina ingerida é absorvida de forma livre. O restante é transformado em trimetilamina pelos microrganismos intestinais, sendo absorvida, depositada na carne e ovos ou excretada via urina em aproximadamente 6 a 12 horas após o consumo (Leeson e Summers, 2001; Combs Jr, 2008; Rutz, 2008).

### 1.3 FUNÇÕES

A colina participa das seguintes funções: (1) na forma de lecitina faz parte da estrutura das membranas celulares e das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), que transportam triglicerídeos no sangue, além de ser fator essencial no amadurecimento da cartilagem óssea; (2) é um “fator lipotrópico” evitando a esteatose hepática mediante a promoção do transporte de ácidos graxos na forma de lecitina ou a utilização dos ácidos graxos no próprio fígado; (3) é precursora da acetilcolina, neurotransmissor do sistema nervoso parassimpático; e (4) é fonte de grupos metila participando da síntese de metionina e creatina (Smith e Akinbamijo, 2000).

### 1.4 EXIGÊNCIA E DEFICIÊNCIA

Antigamente, a colina era classificada como vitagênio, ou seja, tem todas as características funcionais das vitaminas, diferindo delas por fornecer energia e participar como unidade estrutural das células. Além disso, a colina se diferencia pela quantidade requerida pelos animais, chegando a ser até 20 vezes superior as demais (Moreno et al., 2012).

Tabela 1 - Níveis de suplementação de vitaminas para rações de suínos (quantidade por kg de ração).

Nutriente	unidade	Pré-Inicial	Inicial	Crescimento	Terminação	Reprodução
<b>Colina</b>	<b>mg</b>	<b>340</b>	<b>262</b>	<b>195</b>	<b>135</b>	<b>780</b>
Vitamina A	UI	11617	10931	6644	4600	10400
Vitamina D	UI	1476	2405	1461	1012	1560
Vitamina E	UI	70	65,6	39,8	33	58,5
Vitamina K	mg	5,03	3,87	3,05	2,38	2,6
Vitamina B <sub>1</sub>	mg	1,704	1,31	0,97	0,675	1,3
Vitamina B <sub>2</sub>	mg	6,35	4,89	3,63	2,51	5,2
Ac. Nicotínico	mg	50,35	38,8	24	19,9	32,5
Ac. Pantotênico	mg	25,5	19,7	12	10,1	20,8
Vitamina B <sub>6</sub>	mg	3,45	2,62	1,61	1,35	1,95
Vitamina B <sub>12</sub>	mg	0,035	0,027	0,02	0,014	0,026
Ácido Fólico	mg	0,542	0,418	0,31	0,215	1,3
Biotina	mg	0,170	0,131	0,097	0,067	0,325

Adaptada de Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (2017).

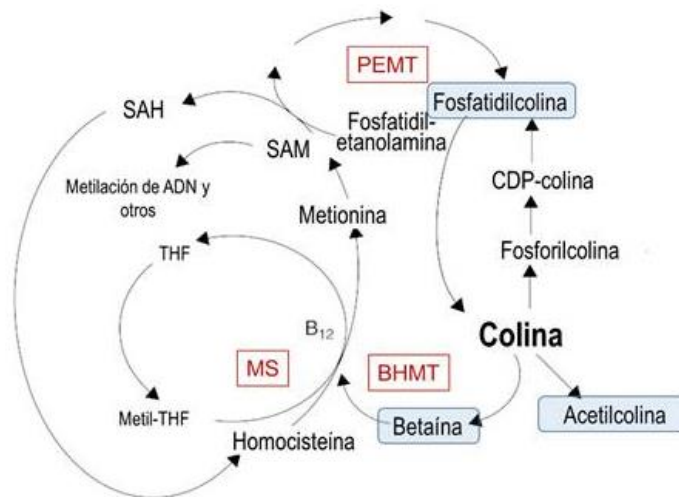
Os principais sinais de deficiência de colina incluem baixo crescimento, lipídose hepática, perose em aves, hemorragia no rim e nas articulações e hipertensão. A severidade dos sinais clínicos está influenciada por outros nutrientes como metionina, vitamina B12, folacina e gordura (Moreno et al., 2012).

Em suínos, a deficiência de colina produz leitões de conformação alterada (pernas curtas e abdômen distendido), incoordenação de movimentos, lipídose hepática, oclusão renal e, em recém-nascidos, uma condição de pernas estendidas que pode ser prevenida com suplementação de colina nas fêmeas gestantes. Esta última condição aumenta quando é reduzida a quantidade de alimento fornecido às porcas gestantes (de 3,2 a 1,5 kg/dia), o que resulta em menor consumo de colina e metionina. A deficiência de colina também se manifesta nas porcas por baixa taxa de concepção e diminuição da leitegada (Moreno et al., 2012).

### 1.5 RELAÇÃO ENTRE COLINA E METIONINA

Visto anteriormente, a colina e a metionina são dependentes, pois ambas são necessárias em vários processos metabólicos. A biossíntese de colina no organismo animal acontece nos tecidos, e para isso tem a participação da metionina através da doação de grupos metil. A serina é descarboxilada a etanolamina e posteriormente metilada a monometilanolamina que é metilado a colina (López-Sobaler et al., 2020).

Figura 4 - Esquema do metabolismo da colina.



B12: vitamina B12; BHMT: betaína-homocisteína S-metiltransferase; CDP-colina: citidina difosfocolina; MS: metionina sintetase; PEMT: fosfatidiletanolamina metiltransferase; HAS: S-adenosil-homocisteína; SAM: S-adenosil-metionina; THF: tetrahidrofolato. Fonte: López-Sobaler, A. M. et al. Importancia de la colina em la función cognitiva. Nutr. Hosp. vol.37, Madrid, 2020.

O envolvimento das vitaminas folacina e B12, bem como da metionina, no metabolismo dos grupos metila, faz com que estas substâncias possam substituir parcialmente as necessidades de colina. Esta última função (doador de grupos metila) constitui o principal fator que determina a patologia em casos de deficiência de colina, o metabolismo insuficiente de colina/metionina está associado a problemas hepáticos, diminuição da secreção de lipoproteínas, hipoglicemia, retardo no crescimento etc (López-Sobaler et al., 2020).

## 1.6 DESEMPENHO

O efeito da colina no desempenho de suínos em crescimento e terminação é pouco explorado na literatura. Devido a interação com outros ingredientes presentes nas dietas é difícil observar alterações no desempenho animal (Tabela 2).

A participação da colina no metabolismo da metionina sugere que pode ter ação importante na deposição muscular, indicando uma melhora no ganho de peso(Xie et al., 2023). Além disso é esperado que a colina tenha efeito positivo nas características de carcaça, sendo aumento da carne magra e redução da espessura de gordura(Xie et al., 2023). A alta concentração da vitamina pode diminuir o substrato disponível para síntese de ácidos graxos e consequente deposição (Xie et al., 2023).

A resposta da suplementação de colina também pode depender da fase animal e do período de avaliação. Da saída dos animais da creche até os 60-65 kg de peso vivo é considerado a fase de crescimento. Nesse período a taxa de crescimento é acelerada, sendo uma maior velocidade na deposição de tecido magro, com um consumo menor de alimento. Esta fase pode apresentar pode ser maximizada com a suplementação de colina. Até o momento do abate dos animais é considerado a fase de terminação, onde o ganho de peso entra em uma constante e a deposição de gordura acaba sendo maior do que a de proteína. Nessa fase a colina pode ser benéfica na redução da deposição de gordura, algo preconizado pelas indústrias (Xie et al., 2023). Um método para identificar os resultados e desempenho sobre a colina já estudados e publicados é a revisão sistemática.

## 1.7 REVISÃO SISTEMÁTICA

A meta-análise é uma ferramenta que permite uma combinação de resultados de vários estudos, produzindo uma nova conclusão sobre o assunto abordado. Essa metodologia permite fazer uma síntese de dados contraditórios, aumenta a precisão e aplicabilidade do efeito do

tratamento avaliado e permite reforçar a hipótese e/ou gerar novas conclusões (Lovatto et al., 2007).

A meta-análise é realizada através de etapas: 1) é necessário definir os objetivos de pesquisa, melhorando o poder estatístico; 2) seleção e agrupamento dos dados. Esses dados são coletados de estudos que se enquadrem no assunto de interesse; 3) os dados são tabulados em planilhas e 4) estudo gráfico para uma visualização e identificação rápida das informações e relações importantes; as últimas etapas são a 5) escolha do modelo estatístico e 6) as análises que geram novas conclusões (Sauvant et al., 2008).

## 1.8 HIPÓTESES

Em função das diferentes problemáticas do tema, algumas hipóteses foram levantadas para serem estudadas nessa dissertação:

- 1) Por meio da revisão sistemática identificar variáveis relacionadas ao impacto da colina na produção de suínos.
- 2) A suplementação com colina melhora o desempenho de suínos com benefícios ao metabolismo proteico e reflexos nas características de carcaça.
- 3) É importante considerar possíveis interações nutricionais como entre colina e metionina que alteram o desempenho de suínos.
- 4) O perfil lipídico sofre alterações devido a ação lipotrópica da colina no metabolismo do suíno.

Tabela 2 - Efeito das fontes de colina sobre o desempenho de leitões em creche e suínos em crescimento e terminação.

Artigo	Fonte <sup>1</sup>	Nível, ppm	Aditivo	Nº Animais	Categoria	Padrão Dieta <sup>2</sup>	Nutriente Limitante <sup>3</sup>	Peso Inicial, kg	Peso final, kg	Desempenho			
										GMD, g/dia	CA	Digestibilidade Nutrientes	Espessura Gordura
Siljander-Rasi; 2003	CC	578;1155;2310;	Betaina	70	C/T	M+FS	-	30,0	98,4	•	•	-	•
Siljander-Rasi; 2016	CC	578;1155;2310;	Betaina	70	Cres/Term	M+FS	-	29,6	98,0	•	•	-	•
Soto et al.; 2017	CC	300	Potássio	284	T	M+FS	PB↓	112	133	•	•	-	•
Smith et al.; 1994	CC	100	Betaina	80	T	M+FS	-	60,0	104	▼ (1,7%)	▲ (7,14%)	-	•
Qiu et al.; 2021	CC	597; 500; 1097;	Acidos Biliares	128	Cr	-	-	8,21	25,2	▲ (8,4%)	•	▲ (8,4%)	•
Jiao et al.; 2019	CC; B;	500		90	T	M+FS	-	82,2	111	▲ (4,29%)	•	▲ (4,29%)	▲ (3,32%)
Ochoa et al.; 2018	CC	500	Lisina	1190	C/T	-	PB↓	31,0	128	•	•	-	•
Jakob et al., 1998	CC	855		6	Term	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: ▲ : Aumento (p<0,05), ▼ : Redução (p<0,05), • : Não alterado (p>0,05), (variação, %).<sup>1</sup> Fonte de colina, CC: cloreto de colina, B: biocolina; <sup>2</sup>Padrão da dieta, M+FS: milho e farelo de soja; <sup>3</sup>PB: proteína bruta. – não informado.

## REFERÊNCIAS

- ASSUMPCÃO, R. T. M. D.; MACHADO FILHO, C. D. S. Uso dermatológico da fosfatidilcolina. **Arquivo Medicina Abc**, São Paulo, v. 1, n. 31, p. 41-45, 2005.
- COMBS Jr. G.F. The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health. Cornell University, **Division of Nutritional Sciences**, 3 ed, p.583, 2008.
- CRONJE, P. B. Essential role of methyl donors in animal productivity. **Csiro Publishing**, 2016.
- GRACIANO, T.S. *et al.* Desempenho e morfologia hepática de juvenis de tilápia-do-nilo alimentados com dietas suplementadas com metionina e colina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p.737-743, 2010.
- GONZALES, F.H.D, SILVA, S.C. **Minerais e vitaminas no metabolismo animal**. Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, 2019.
- JAKOB, S. et al. Diurnal pattern of choline concentrations in serum of pigs as influenced by dietary choline or lecithin intake. **Z Ernährungswiss**, v. 37, p. 353–357, 1998.
- JIAO, Y.; LEE, S. I.; KIM, I. H. Effect of choline chloride with propylene glycol on growth performance and meat quality in finishing pigs. **Agricultural Research Communication Centre**, p. 1349-1353, 2019.
- LEESON, S.; SUMMERS, J. **Commercial poultry nutrition**. Guelph: University Books, 4 ed., 2001.
- LÓPEZ-SOBALER, A. M. et al. Importancia de la colina em la función cognitiva. **Nutrição Hospitalar**. vol.37, 2020.
- LOVATTO, P.A.; LEHNEN, C.R.; ANDRETTA, I.; CARVALHO, A.D. and HAUSCHILD, L. Meta-análise em pesquisas científicas: enfoque em metodologias. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v 36, 2007.
- MCDOWELL, L. R. Vitamins in animal and human nutrition. 2. **Ed. New Dehli: Wiley India**, 2014.
- MORENO, A.M.; SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. Deficiências nutricionais. In: SOBESTIANSKY, J.; BARCELLOS, D. **Doenças dos suínos**. 2. ed. p.611-626, 2012
- RUTZ, F.; MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES. Absorção de vitaminas. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L., GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. 2 ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p. 149-166, 2008.
- LOPEZ-SOBALER, A. M. et al. Importancia de la colina en la función cognitiva. **Nutrição Hospitalar**, vol.37, n.2, p.18-23. 2020.
- LOVATTO, P.A. et al. Meta-análise em pesquisas científicas- enfoque em metodologias. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, suplemento especial, p.285-294, 2007.
- OCHOA, L. et al. Evaluation of supplementation of potassium chloride and choline chloride in high feed grade amino acid finishing diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 96, p.185-186, 2018.
- ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 4. ed. Viçosa: UFV / DZO, 2011.

RUTZ, F.; ANCIUTI, M.A.; MAIER, J.C. Digestão, absorção e metabolismo das vitaminas. In: SAKOMURA, N.K et al. **Nutrição de Não Ruminantes**. São Paulo: FUNEP, p. 145-165, 2014.

SAUVANT, D.; SCHMIDELY, P.; DAUDIN, J.J.; ST-PIERRE, N.R. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. **Animal**, v.2, n.8, p. 1203–1214, 2008.

SILJANDER-RASI, H.; TIIHONEN K.; PEURANEN, S.; SIMMINS, P.H. The effect of equi-molar dietary betaine and choline addition on performance and carcass quality of pigs. **Proceedings of the British Society of Animal Science**, v. 2001, p. 7, 2017.

SILJANDER-RASI, H. et al. Effect of equi-molar dietary betaine and choline addition on performance, carcass quality and physiological parameters of pigs. **Animal Science**, v.76, p.55-62, 2003.

SMITH, O. B.; AKINBAMIJO, O. O. Micronutrients and reproduction in farm animals. **Animal Reproductive Science**, v. 60-61, p. 549-560, 2000.

SMITH, J.W. et al. The effects of supplementing growing finishing swine diets with betaine and (or) choline on growth and carcass characteristics. **Anais Swine Day**, Kansas State University, p. 158-160, 1994.

SOTO, J.A. et al. Dietary supplementation of choline or potassium in low crude protein diets on growth and carcass performance of finishing pigs from 245 to 295 lb. **Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service**, v. 3, n. 40, p. 1-7, 2017.

QUI HE. et al. Methyl-Donor micronutrient for gestating sows: effects on gut microbiota and metabolome in offspring piglets. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, p. 1-15, 2021.

XIE, Z. et al. Short-term dietary choline supplementation alters the gut microbiota and liver metabolism of finishing pigs. **Frontiers In Microbiology**, v. 14, p. 1-15, 2023. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2023.1266042>.



## **CAPÍTULO 2 - META-ANÁLISE DA SUPLEMENTAÇÃO DE COLINA PARA SUÍNOS EM CRECHE, CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO.**

### **2.1 INTRODUÇÃO**

Suínos são animais precoces, eficientes e que apresentam carcaças com elevada relação carne:gordura, associada a um ótimo padrão de qualidade. Com o aumento das exigências nutricionais ficou evidenciada a necessidade de nutrientes específicos para funções vitais, mesmo que em pequenas quantidades como as vitaminas. Vitaminas como a colina podem ser suplementadas na dieta de suínos com benefícios ao desempenho (Jiao et al., 2019). A colina participa no metabolismo intermediário, atua como um doador de metil, participando da síntese de metionina, além de ser um componente da lecitina e acetilcolina, e possuir fator lipotrópico, impedindo o acúmulo de gordura no fígado e sua degeneração tecidual (Jiao et al., 2019).

A colina normalmente é incluída nas rações em sua forma química, o cloreto de colina. Porém, a definição da utilização da colina nas rações de suínos é dificultada devido à complexidade das interações entre os doadores de metil, considerando a adição de mais de um doador nas rações, como betaína e metionina (Zhan et al., 2023). Além da grande quantidade de ingredientes que disponibilizam colina, ela também apresenta dificuldade de armazenamento, devido a facilidade de empedramento, impossibilitando conclusões sobre a aplicabilidade do uso em larga escala. Mesmo sendo um nutriente essencial no crescimento dos suínos, na literatura poucos estudos exploram os efeitos da colina sobre o desempenho de suínos no crescimento terminação. Uma das formas de explorar estes efeitos é através da abordagem sistêmica e da meta-análise, que permite combinar os resultados de vários estudos e gerar novas conclusões sobre o tema. Estudos de meta-análise são apropriados para a análise conjunta dos dados, particularmente quando as variáveis medidas são consistentes entre os estudos (Sauvant et al., 2020).

Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi integrar através da abordagem meta-analítica a literatura disponível sobre a suplementação de colina na dieta de suínos em crescimento e quantificar seus efeitos sobre o desempenho.

### **2.2 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **2.2.1 Sistematização das Informações: Seleção dos Artigos**

Uma análise sistemática criteriosa foi conduzida para selecionar os estudos que compuseram a base de dados. Os estudos foram selecionados principalmente pelas bases

eletrônicas *Science Direct*, *Web of Science* e *Scopus*, usando termos nos idiomas português, inglês e espanhol. A estratégia de pesquisa abordada PICO (População, Intervenção, Comparação e “Outcomes”) com a combinação e variação de termos para definir a população (suínos em crescimento), intervenção (colina ou biocolina) e desfecho (desempenho, ganho de peso, características de carcaça). As buscas pelos estudos foram realizadas entre setembro de 2021 a agosto de 2022.

Os critérios para seleção das publicações foram: suplementação de fontes de colina, e/ou ingredientes com altos níveis da vitamina em dietas para suínos em creche, crescimento e terminação, respostas de desempenho, características de carcaça e qualidade de carne. Diversos trabalhos foram excluídos da base, por não estarem adequados aos critérios de seleção. Os critérios de exclusão foram: artigos que não se enquadram na categoria/fase animal, ausência de variáveis de desempenho e carcaça, que não apresentavam resultados em forma de tabelas (gráficos e figuras dificultam a tabulação), estudos de revisão bibliográfica, estudos e tratamentos que utilizavam a colina em associação a outro aditivo. O processo de seleção de trabalhos para inclusão na base de dados foi realizado seguindo o fluxograma PRISMA proposto por Moher et al (2020).

### 2.2.2 Gerenciamento de Banco de Dados, Codificação e Filtragem dos Dados

Ao final da seleção, os estudos foram incluídos em uma planilha eletrônica Microsoft Excel, onde cada coluna representou uma variável e cada linha um tratamento (Microsoft Corporation, 2015). Foram tabulados os dados relativos aos aspectos bibliográficos (autores, ano, periódico, país e instituição de origem e etc.), as características experimentais (linhagem genética, idade, lotação, peso inicial, tempo de experimentação, etc.), aos tratamentos (com ou sem colina e possíveis aditivos doadores de metil como metionina e betaína), níveis de adição, fonte (cloreto de colina, biocolina, colina de lecitina), presença ou não de nutrientes limitantes, composição da dieta (energia, proteína bruta, milho, soja, aminoácidos) e aos resultados (desempenho zootécnico, características quantitativas e qualitativas de carcaça).

Foram criadas codagens moderadoras para considerar: a) efeito de estudo, em que cada artigo recebeu um número sequencial (COD 01, 02, 03...), b) codificação inter-estudo (COD artigo 01 + tratamento = 011) e c) codificação intraestudos, para considerar os efeitos de medidas repetidas no tempo ou doses seriadas. Outras codificações foram aplicadas para caracterizar os tratamentos e padronizar grupos na análise dos dados. Assim, os estudos foram

codificados em colina (COL), dieta basal (DB); em fases de creche, crescimento, terminação e cresc/term), sexo, genética para considerar a variabilidade dos artigos.

A composição das dietas experimentais foi determinada a partir dos níveis de inclusão de cada ingrediente nos estudos. Posteriormente, a composição nutricional foi recalculada usando o Evapig® (v. 1.4.0.1; INRA, Saint-Gilles, France) para informações de energia digestível e metabolizável, digestibilidade ileal padronizada dos aminoácidos e demais nutrientes. Este método foi considerado para minimizar a variação de nutrientes nas dietas entre experimentos e estimar a composição completa das dietas (tabela 3). Neste estudo utilizamos como referência a metionina para suínos em crescimento e desconsideramos dietas com variação superior a 5% na relação de composição apresentada no artigo e recalculada.

Tabela 3 - Composição nutricional, médias ajustadas de dietas experimentais para leitões em crescimento/terminação suplementados com diferentes níveis de colina.

Fontes <sup>1</sup>	DB	COL
ED, kcal/kg	3263,83	3223,23
EM, kcal/kg	3134,85	3080,16
PB %	13,44	14,27
Ca %	0,47	0,41
P %	0,45	0,45
Lis %	0,84	0,94
Met %	0,31	0,35
M+C %	0,56	0,60
Lis dig %	0,74	0,83
Met dig%	0,29	0,32
M+C dig %	0,51	0,54

<sup>1</sup>ED: <sup>1</sup>Energia Digestível, EM: Energia metabolizável, PB: Proteína bruta, Ca: Cálcio, P: Fósforo, Lis: Lisina total, Met: Metionina total, M+C: Metionina e cistina total, Lis dig: Lisina digestível, Met dig: Metionina digestível, M+C dig: Metionina e cistina digestível. DB, controle, COL, colina.

Após a análise de elegibilidade, os artigos foram avaliados com base nos critérios de seleção e pontuados seguindo os parâmetros:

A Delineamento inteiramente casualizado (2) informado ou não (1) randomizado ou não informado;

B Número de tratamentos: (2) > a 3 tratamentos ou (1) < 2 tratamentos;

C Tamanho da amostra: (2) > 51 unidades experimentais por tratamento ou (1) < a 50 unidades;

D Fonte de colina: (2) informado ou (1) não informado;

E Grupo controle: (2) informado ou (1) não informado;

F Composição da dieta: (2) informado (1) pouco detalhado ou não informado;

G Nível de metionina: (2) informado em cada tratamento ou (1) pouco detalhado ou não informado;

H Associação colina e outro aditivo: (2) informado em cada tratamento ou (1) pouco detalhado ou não informado;

I Nutrientes limitantes: (2) alteração na composição da dieta com limitação de nutrientes ou (1) pouco detalhado ou não informado;

J Descrição do ambiente: (2) informado ou (1) pouco detalhado ou não informado;

K Procedimento analítico: (2) descrição detalhada dos efeitos analisados no modelo ou (1) pouco detalhado ou não informado;

L Comitê ética animal: (2) estudos aprovados por comitê de ética ou (1) não informado;

Qualidade: >22 pontos – alta; 20-21 pontos – moderada; <20 pontos – baixa.

### 2.2.3 Análise Estatística

A meta-análise seguiu três análises sequenciais: gráficas (observar a qualidade da base de dados e verificar a coerência biológica dos dados, e de modo geral a consistência e heterogeneidade), análises de correlações (para identificar fatores relacionados entre todas as variáveis) e variância-covariância (para comparar tratamentos e obter equações de predição). Os artigos foram considerados como efeito fixo para a análise de todas as variáveis no procedimento de Modelo Linear Generalizado. Foram utilizados os programas MINITAB 19 e R Studio (version 3.6.1; R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

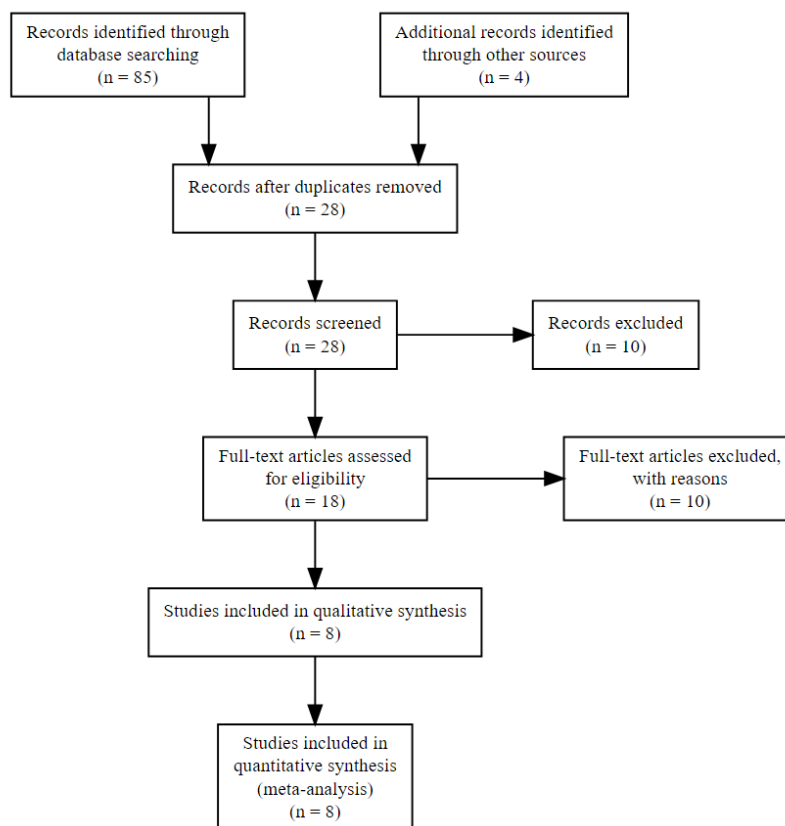
## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1 Resultados da Busca de Literatura

Seguindo o diagrama de PRISMA (figura 5) foram selecionados 28 estudos, sendo 24 nas principais bases indexadoras e 4 estudos de outras fontes. Desses, 10 artigos foram

excluídos por não estarem de acordo com os critérios de seleção. Dos 18 estudos restantes 10 foram excluídos por não apresentarem resultados em tabelas e/ou dados de características de carcaça, sobrando 8 trabalhos que foram incluídos no banco de dados. A presente revisão sistemática resumiu e avaliou criticamente a literatura existente sobre os efeitos da suplementação de diferentes fontes de colina para suínos em crescimento e terminação. A meta-análise permite realizar uma abordagem mais ampla de todos os estudos que respondem ao nosso objetivo.

Figura 5 - Diagrama de PRISMA de estudos identificados e incluídos para síntese qualitativa e quantitativa de estudos sobre a suplementação de fontes de colina para suínos.



### 2.3.2 Descrição da Base de Dados

A base contemplou 42 linhas e 232 colunas em uma planilha eletrônica. O espaço temporal foi de 1998-2021. A base totalizou 1.918 animais (128 animais de creche, 1790 animais de crescimento e terminação), divididos em 35 tratamentos diferentes (54 animais por tratamento). Os tratamentos foram codificados em três: DB, dieta basal sem aditivos ou colina; COL, fontes de colina (lecitina, cloreto de colina, biocolina). Dos 35 tratamentos, 13 compõe dietas basais, com níveis de até 2310 mg/kg de colina na dieta.

O número de estudos encontrados na literatura, mesmo com a inclusão da literatura cinza, fora muito reduzido, sendo estes dados insuficientes para a maioria das análises. Existe uma defasagem de estudos publicados em um espaço temporal, sendo utilizados na base estudos muito antigos e muito recentes, o que pode apresentar uma discrepância maior de dados. Fatores como níveis a serem adicionados na ração, fase do animal, período de oferta, fonte de colina e nutrientes limitantes não foram capazes de serem explorados nesta meta-análise devido a limitada população amostral.

### 2.3.3 Revisão Sistemática

Como ferramenta da revisão sistemática, foram utilizados critérios de qualidade que possibilitaram a caracterização dos artigos para aumentar a precisão da metodologia da meta-análise (tabela 4). Esse método tem como objetivo observar os aspectos relevantes dos estudos para futuramente definir métodos e protocolos utilizados na pesquisa.

Tabela 4 - Avaliação da qualidade dos artigos de acordo com os critérios estabelecidos.

Autor/Ano	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	TOTAL	Qualidade
Siljander-Rasi; 2017	2	2	1	2	2	2	2	2	1	1	1	1	19	Baixa
Siljander-Rasi; 2003	2	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2	22	Alta
Soto et al.; 2017	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	23	Alta
Smith et al.; 1994	2	2	1	2	2	1	1	1	1	2	1	1	18	Moderada
Qiu et al.; 2021	2	2	1	2	2	1	1	1	1	2	1	1	17	Baixa
Jiao et al.; 2019	2	2	1	2	2	2	2	2	1	2	2	2	22	Alta
Ochoa et al.; 2018	1	2	2	2	1	1	1	2	2	1	1	1	17	Baixa
Jakob et al.; 1998	2	2	1	2	2	1	1	2	1	2	2	1	19	Baixa

A: Delineamento inteiramente casualizados = 2 pts, enquanto estudo não randomizado (ou sem informação no texto) = 1 pt; B: N° de tratamentos > a 3 = 2 pts, enquanto estudo com apenas dois tratamentos (ou sem descrição no texto) = 1 pt; C: Tamanho da amostra: estudos com menos de 50 unidades experimentais por tratamento = 1 pt, enquanto mais de 51 animais = 2 pts; D: Fonte de colina: descrição da fonte de colina = 2 pts, enquanto não descrito ou pouco detalhado = 1 pt; E: Grupo controle: estudos com grupo controle = 2 pts, enquanto sem grupo controle (ou sem descrição no texto) = 1 pt; F: Composição da dieta: apresentação da composição centesimal e nutricional da dieta = 2pts, enquanto não descrito ou pouco detalhado = 1pt; G: Nível de metionina: indicação dos níveis de metionina em cada tratamento = 2 pts, enquanto não aplicado ou informado = 1 pt; H: Associação colina e outro aditivo: 1 pt, enquanto tratamento com ausência de aditivos = 2 pts; I: Nutrientes limitantes: alteração na composição da dieta com limitação de nutrientes = 2 pts, enquanto não descrito = 1pt; J: Descrição do ambiente: descrição de parâmetros ambientais (temperatura, área de baias) = 2 pts, enquanto não descrito ou pouco detalhado = 1pt; K: Procedimento analítico: descrição detalhada dos efeitos analisados no modelo analítico = 2 pts, enquanto

não descrito ou pouco detalhado = 1pt; L: Comitê ética animal: estudos aprovados por comitê de ética = 2 pts, e quando não aprovado ou a aprovação não foi mencionada, 1 pt. Qualidade: >22 – alta; 20-21 – moderada; <20-baixa.

O banco de dados apresentou uma escala de 12 a 24 pontos, sendo a nota máxima alcançada de 23 pontos (Soto et al., 2017), e a mínima de 17 pontos (Qiu et al., 2021; Ochoa et al., 2018). Diante da caracterização dos artigos foi possível incluir uma classificação de qualidade, considerando os que atendem mais critérios estabelecidos. Artigos com pontuação superior a 22 foram considerados como alta qualidade, enquanto com pontuação de 20-21 qualidade moderada e inferior a 19, baixa qualidade. Dentre os oito artigos avaliados, apenas três foram considerados de alta qualidade (Siljander-Rasi et al., 2003; Soto et al., 2017; Jiao et al., 2019).

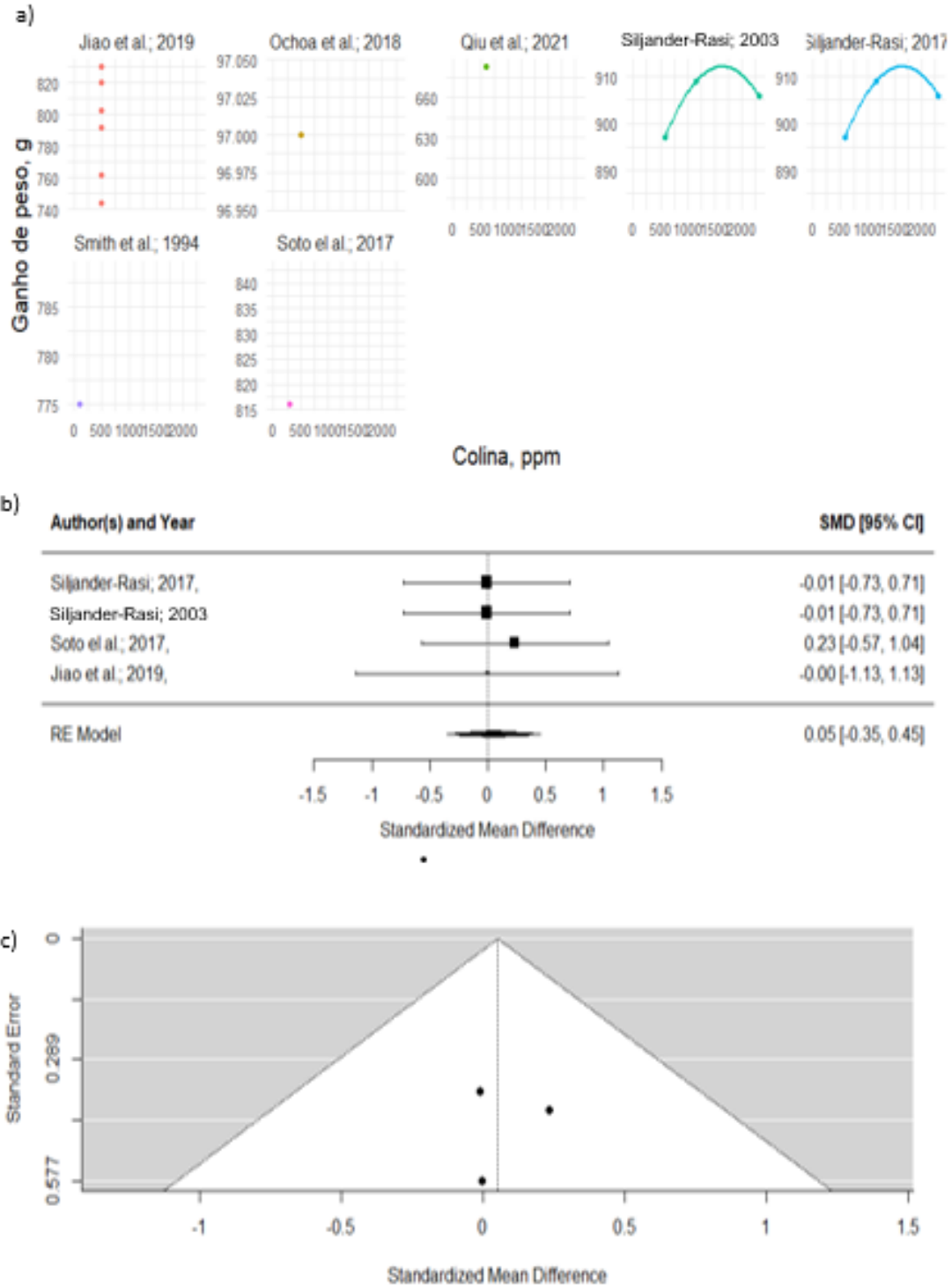
Dentre os estudos incluídos na base de dados, 87,5% foram descritos como delineamento inteiramente casualizados, e 75% descreveram os parâmetros de ambiente. Todos os estudos apresentaram mais de dois tratamentos, porém apenas 25% apresentaram mais de 50 unidades experimentais por tratamento e 12,5% não tinham grupo controle.

A descrição da composição centesimal e nutricional da dieta, bem como os níveis de metionina nos tratamentos foi apresentada por metade dos estudos. Nesta análise apenas três artigos (Siljander-Rasi et al., 2003; Soto et al., 2017; Jiao et al., 2019) apresentaram detalhamento das informações no modelo analítico. A avaliação da base mostrou que menos de 65% dos trabalhos detalharam que seus protocolos experimentais aprovados por um comitê de ética para experimentação animal.

#### 2.3.4 Desempenho

Apenas 3 dos 7 estudos apresentaram tratamentos com diferentes níveis de suplementação de colina nas dietas com respostas sobre o ganho de peso de suínos em crescimento e terminação (figura 6a). Dentre esses, quatro estudos possuíam apenas um tratamento com a suplementação de colina de forma isolada. Quatro estudos compuseram a meta-análise por forest plot, sugerindo que o uso de colina não interfere no ganho de peso de suínos em crescimento e terminação (figura 6 b). É possível observar no gráfico funnel plot a assimetria de pontos indicando um risco de viés de publicação (figura 6 c).

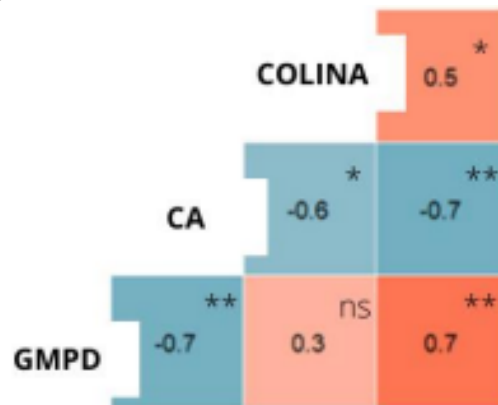
Figura 6 - Ganho de peso de suínos em crescimento e terminação suplementados com dietas contendo colina (a), forest plot do efeito da colina sobre o ganho de peso (b) e distribuição dos artigos para análise da colina sobre o ganho de peso de suínos em crescimento e terminação





A suplementação de colina não apresentou correlação com o ganho médio diário ( $P>0.5$ ). A conversão alimentar apresentou correlação negativa e significativa ( $P<0.05$ ) com a utilização de colina, sugerindo que sua utilização pode diminuir a conversão alimentar (Figura 7).

Figura 7 - Estudo de correlações entre as variáveis resposta de suínos em crescimento e terminação suplementados com colina.



gmpd: ganho médio diário, kg/dia; ca: conversão alimentar, g/g; colina: nível de inclusão da colina.

O consumo do tratamento colina e da dieta basal foram semelhantes. Referente ao ganho médio diário, esta variável apresentou dados semelhantes dentro do tratamento, bem como entre tratamentos. O tratamento controle teve uma distribuição mais homogênea.

A suplementação de colina para suínos em crescimento e terminação não influenciou nas variáveis analisadas ( $P>0,05$ ), sugerindo que o uso de colina não interfere no ganho de peso, consumo médio diário, conversão alimentar em crescimento e terminação (Tabela 5). As demais variáveis de características de carcaça e qualidade de carne não apresentaram dados o suficiente para incluir na análise.

Neste trabalho não houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis de desempenho. Esse resultado é um indicador da falta de estudos referente ao assunto, que devido a pouca quantidade de artigos encontrados para inclusão na base, não foram possíveis realizar mais análises. Estudos anteriores com suínos em diferentes fases também não constataram alterações nos índices zootécnicos. A ação da colina só foi observada em pesquisas que continham níveis inferiores de metionina e/ou de proteína bruta (NRC, 2012), contudo, o melhoramento genético dos animais ocasionou uma mudança nas exigências nutricionais e o perfil de nutrientes presente nas rações atendem as novas especificações.

Tabela 5 - Consumo médio diário, ganho médio diário e conversão alimentar de suínos em crescimento terminação suplementados com colina.

		Desempenho <sup>1</sup>		
		CMDR, kg	GMD, kg	CA
Tratamento <sup>2</sup>	n	LS-Médias <sup>3</sup>	LS-Médias	LS-Médias
DB	9	2,30	0,792	3,06
COL	15	2,26	0,830	2,85
dpr		0,60	0,24	0,58
Modelo <sup>4,5</sup>		Probabilidade dos efeitos fixos		
Tratamento		0,994	0,198	0,690
Fase		<0,001	<0,001	<0,001
Artigo		<0,001	<0,001	<0,001
Trat*Fase		0,966	0,806	0,884
Trat*Artigo		0,999	0,486	0,844

<sup>1</sup> CMDR, consumo médio diário de ração; GMD, ganho médio diário; CA, conversão alimentar.

<sup>2</sup> SEM, controle negativo (sem aditivos); COL, fontes de colina; dpr, desvio padrão residual.

<sup>3</sup> LS-Médias (médias dos mínimos quadrados) dos grupos inter experimentais.

<sup>4</sup> Artigos (experimentos) inseridos no modelo como variável de efeito fixo.

<sup>5</sup> Probabilidade de 5%.

Devido às fortes interações que a colina tem com outros doadores de metil é difícil observar a melhora na performance do animal (Jiao et al., 2019). Doadores de metil desempenham um papel importante na regeneração da metionina, através da transmetilação que consiste na transferência de um grupo metil ativo da colina para uma molécula receptora. A transmetilação é necessária em mais de 100 processos metabólicos, fator que pode atrapalhar o efeito da colina sobre o desempenho diretamente (Cronje, 2018).

A colina pode ser obtida na dieta a partir do consumo de fosfolípidos que a contenham. Os requerimentos são bem maiores do que a maioria das vitaminas, estando em torno de 2.000 ppm na dieta. A colina está presente em todos os tecidos como componente dos fosfolípidos de membrana e sua liberação nas células ocorre por ação da fosfolipase C, que quebra a lecitina para render diacilglicerol e fosfocolina. Diante disso, é difícil separar o que é resultado da suplementação de colina ou da presença dela na dieta (Cheng et al., 2019).

A presente revisão encontrou uma melhora na conversão alimentar com a presença de colina na dieta através da análise de correlação. Um estudo realizado com leitões desmamados demonstrou que a suplementação de colina aumentou o ganho médio diário e melhorou a conversão alimentar, associando a promoção do uso dos lipídios na dieta pela colina, através da maior atividade da lipase na digesta e maior concentração de ácidos biliares (Qiu et al., 2021).

A revisão sistemática e meta-análise confirmaram a escassez de estudos sobre a suplementação de colina para suínos em fases de crescimento. Muitos fatores podem estar associados a não evidenciar resultados concretos da sua ação no organismo, como a presença de colina na maior parte dos ingredientes e interação com outras moléculas. Muitos estudos não puderam ser inclusos na análise (10 estudos) devido a forma de apresentação dos seus dados, além de, um número reduzido de dados acerca de algumas variáveis, como características de carcaça. Isso contribuiu para reduzir o poder de nossa análise. Portanto, mais estudos com protocolos experimentais padronizados são necessários, com foco em variáveis que expressem respostas para a suplementação de colina e níveis nutricionais de moléculas semelhantes adequados.

## 2.5 CONCLUSÃO

A falta de informações na base de dados limitou a conclusão quanto ao desempenho de suínos em crescimento e terminação com suplementação de colina em dietas. Nessa mesma lógica não foi possível explorar efeitos como fontes e níveis de colina para suínos em crescimento e terminação.

## REFERÊNCIAS

CHENG, H. et al. Identification of sinapine-derived choline from a rapeseed diet as a source of serum trimethylamine N-Oxide in pigs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 67, p. 7748-7754, 2019.

CRONGE, P. B. Essential role of methyl donors in animal productivity. **Csiro Publishing**, 2016.

JAKOB, S. et al. Diurnal pattern of choline concentrations in serum of pigs as influenced by dietary choline or lecithin intake. **Z Ernährungswiss**, v. 37, p. 353–357, 1998.

JIAO, Y.; LEE, S. I.; KIM, I. H. Effect of choline chloride with propylene glycol on growth performance and meat quality in finishing pigs. **Agricultural Research Communication Centre**, p. 1349-1353, 2019.

MOHER D, LIBERATI A, TETZLAFF J, ALTMAN DG, The PRISMA Group. Preferred **Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement**. Disponível em: [www.prisma-statement.org](http://www.prisma-statement.org).

NRC. **Nutrient Requirements of Swine**. Washington, D.C.: National Academies Press, 2012.

OCHOA, L. et al. Evaluation of supplementation of potassium chloride and choline chloride in high feed grade amino acid finishing diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 96, p.185-186, 2018.

QIU HE et al. Methyl-Donor micronutrient for gestating sows: effects on gut microbiota and metabolome in offspring piglets. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, p. 1-15, 2021.

SAUVANT, D et al. Review: use and misuse of meta-analysis in animal science. **Animal**, v. 14, p. 207-222, 2020. <http://dx.doi.org/10.1017/s1751731120001688>.

SILJANDER-RASI, H.; TIIHONEN K.; PEURANEN, S.; SIMMINS, P.H. The effect of equi-molar dietary betaine and choline addition on performance and carcass quality of pigs. **Proceedings of the British Society of Animal Science**, v. 2001, p. 7, 2017.

SILJANDER-RASI, H. et al. Effect of equi-molar dietary betaine and choline addition on performance, carcass quality and physiological parameters of pigs. **Animal Science**, v.76, p.55-62, 2003.

SMITH, J.W. et al. The effects of supplementing growing finishing swine diets with betaine and (or) choline on growth and carcass characteristics. **Anais Swine Day, Kansas State University**, p. 158-160, 1994.

SOTO, J.A. et al. Dietary supplementation of choline or potassium in low crude protein diets on growth and carcass performance of finishing pigs from 245 to 295 lb. **Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service**, v. 3, n. 40, p. 1-7, 2017.

## **CAPÍTULO 3 - INTERAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO DE COLINA E METIONINA PARA SUÍNOS EM CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO.**

### **3.1 INTRODUÇÃO**

A colina é uma vitamina essencial na alimentação de suínos em várias fases pois participa do metabolismo de proteínas e principalmente no transporte de lipídeos. Poucos estudos avaliaram a utilização de colina para suínos. Em sua maioria as características observadas são as de desempenho, que usualmente acabam não apresentando resultados de grande impacto para a produção. A resposta para isso pode estar relacionada com a interação da colina com outras moléculas como a metionina ou a vitamina B12. A colina participa do ciclo de formação da metionina juntamente com a vitamina B12, portanto, essas substâncias podem substituir parcialmente as necessidades de colina, não sendo possível observar seus efeitos de forma isolada (Murawska et al., 2018; Olgun et al., 2022).

A metionina é o aminoácido que inicia o processo de tradução das proteínas. Além disso, também é uma fonte de grupos metil para muito processos, como síntese de DNA, RNA e proteínas. Uma grande parte das proteínas e peptídeos envolvidos no sistema imunológico também são sintetizados a partir da metionina (Yang et al., 2020).

A suplementação de colina nas rações é através do cloreto de colina. O aditivo é considerado um sal composto, no formato de pó fortemente higroscópico. Diante disso, sua utilização pode acelerar a perda de vitaminas hidrossolúveis adicionadas aos premixes. Este aspecto pode resultar no empedramento do produto, gerando problemas operacionais para as fábricas (Olgun et al., 2022). A deficiência da metionina na dieta de suínos afeta negativamente o desempenho do crescimento (Yang et al., 2020), sugerindo que a utilização de outras fontes de colina possa contribuir para diminuir esses impactos.

Neste cenário, este estudo teve como objetivo avaliar a interação da suplementação de colina e metionina, em diferentes níveis, no desempenho animal, características de carcaça e variáveis sanguíneas de suínos em crescimento e terminação.

### **3.2 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.2.1 Animais, Alojamento e Manejo**

Este projeto foi revisado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Agroceres Multimix, unidade CIAEP/ CONCEA nº 01.0288.2014 sob o protocolo 044/2022. Foram utilizados 1730 suínos machos castrados e fêmeas (Camborough X AGPIC 337) com

70±1 dias de idade e 27,95±2 kg de peso vivo, oriundos da própria granja experimental. O experimento foi realizado na Granja Paraíso, Patos de Minas, MG, Brasil, no período de 01 de dezembro de 2022 a 22 de fevereiro de 2023. As baias, de piso concreto, alojam 30 animais cada um com área de 18m<sup>2</sup> no crescimento e 27m<sup>2</sup> na terminação. Foram utilizadas 64 baias contendo 27±1 animais no crescimento (densidade de 0,50 m<sup>2</sup>/animal) e na terminação (densidade de 0,90 m<sup>2</sup>/animal) durante 42 dias em cada fase. As baias eram equipadas com quatro bebedouros pendular tipo *nipple* e um comedouros do tipo Wean to Finish com capacidade para 50 kg de ração. O sistema de alimentação presente na unidade experimental é o DryExact Pro Big Dutchman® que consiste em um misturador de rações individual para cada válvula (comedouro), sendo possível fornecer diferentes dietas e precisão na quantidade de ração enviada para cada baía ou comedouro. Os comedouros foram conferidos diariamente, sendo três vezes pela manhã e três vezes à tarde, estimulando o consumo dos animais. Sobras de ração associadas a urina foram desidratadas e pesadas. A higienização dos comedouros ocorreu diariamente.

### 3.2.2 Dietas Experimentais e Manejo Alimentar

Os animais foram distribuídos, baseados no peso inicial, em um delineamento de blocos casualizados em fatorial 4 x 2 x 2. Os tratamentos consistiram em suplementação de 4 níveis de cloreto de colina (0; 300; 500 e 700 ppm ) e dois níveis de metionina (exigência – atende ao requerimento de cada fase e restrição – 15% abaixo das recomendações indicadas para cada fase pelo NRC 2012. Cada tratamento contendo oito repetições, sendo cada animal considerado uma unidade experimental. A dieta basal foi formulada com milho, farelo de soja, minerais, vitaminas e aditivos para atender as exigências nutricionais propostas pelo NRC (2012) para suínos em crescimento (25 a 50 kg) e terminação (50 a 110 kg). Ao longo do estudo foram elaboradas quatro dietas basais fornecidas como Recria 1 (70 a 91 dias de idade), Recria 2 (91 a 112 dias), Terminação 1 (112 a 133 dias) e Terminação 2 (133 a 154 dias). Cada fase possuía quatro rações basais (tabela 2) que eram misturadas pelo DryExact Pro para atender a formulação de cada tratamento.

O milho e o farelo de soja utilizados nas dietas experimentais foram previamente analisados por espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS) para valores de matéria seca (MS), matéria mineral, fibra bruta, extrato etéreo, proteína bruta (PB), energia bruta (EB). A água e ração foram fornecidas à vontade. Os comedouros foram conferidos diariamente, sendo três vezes pela manhã e três vezes à tarde, estimulando o consumo dos animais através da movimentação deles e reabastecimento do comedouro. Sobras de ração

associadas a urina eram desidratadas e pesadas. A higienização dos comedouros ocorreu diariamente.

Tabela 6 - Descrição dos tratamentos utilizados na alimentação de suínos em crescimento e terminação suplementados com nível recomendado de metionina pelo NRC e 15% abaixo do nível recomendado de metionina pelo NRC.

Fase/Ração	Idade, dias	Tratamento	Metionina, %
Ração Recria 1	70 a 91	T1 = DB + Nível NRC Met	0,280
		T2 = DB + Nível -15% NRC Met	0,238
Ração Recria 2	92 a 112	T1 = DB + Nível NRC Met	0,240
		T2 = DB + Nível -15% NRC Met	0,204
Ração Terminação 1	113 a 133	T1 = DB + Nível NRC Met	0,210
		T2 = DB + Nível -15% NRC Met	0,179
Ração Terminação 2	134 a 154	T1 = DB + Nível NRC Met	0,180
		T2 = DB + Nível -15% NRC Met	0,153

DB: Dieta basal; Nível NRC Met: nível recomendado de metionina para as fases de acordo com o NRC (2012); Nível -15% NRC Met: 15% abaixo do nível recomendado de metionina para as fases de acordo com o NRC (2012).

Tabela 7 - Descrição dos tratamentos utilizados na alimentação de suínos em crescimento e terminação suplementados com 0 e 700 ppm de cloreto de colina e o nível recomendado de metionina pelo NRC e 15% abaixo do nível recomendado de metionina pelo NRC.

Fase/Ração	Tratamento
Todas as fases	R1 = DB + 0 ppm Colina + Nível NRC Met
	R2 = DB + 0 ppm Colina + Nível -15% NRC Met
	R3 = DB + 700 ppm Colina + Nível NRC Met
	R4 = DB + 700 ppm Colina + Nível -15% NRC Met

DB: Dieta basal; NRC: Nutrient Requirements of Swine, 2012; Met: metionina.

### 3.2.3 Respostas Avaliadas

#### 3.2.3.1 Desempenho

Informações de desempenho foram coletadas a cada troca de ração. O peso vivo e o consumo de ração calculados com base nos valores das pesagens a cada troca de fase. As pesagens ocorreram a cada 21 dias e os animais não permaneceram em jejum alimentar ou hídrico. Os suínos foram pesados de forma coletiva, cada baia (repetição) em uma única pesagem em balança de plataforma. O consumo de ração foi calculado através da diferença entre o fornecido de ração no período total pela sobra no dia da pesagem. Para o ganho de peso, o cálculo foi similar, através da diferença entre o peso no dia da pesagem e o peso da baia na

pesagem anterior. A conversão alimentar foi obtida pela relação entre consumo de ração e ganho de peso no período. Diariamente foram contados e pesados os animais removidos e/ou mortos.

#### 3.2.3.2 Variáveis sanguíneas

Ao final do experimento amostras de 20 mL de sangue de 64 animais (8 animais/tratamento) foram coletadas por punção da veia jugular em tubos estéreis. Para a coleta foram selecionados os animais médios da baia. A finalidade foi avaliar as variáveis hematócrito, hemoglobina, plaquetas, triglicérides totais, colesterol, fosfatase alcalina e hormonal (GH, insulina, glucagon). sendo um com anticoagulante EDTA e um com ativador de coágulo+gel separador. A análise das amostras foi realizada por um laboratório parceiro da empresa, localizado em Patrocínio-MG. A metodologia utilizada pelo laboratório foram: Hematócrito, hemoglobina e plaquetas – princípio VCS (volume, condutividade e laser); Triglicérides, colesterol e fosfatase alcalina – fotometria por reflectância (química seca – VITROS® 5600); GH e insulina – quimioluminescência; e Glucagon – radioimunoensaio.

#### 3.2.3.3 Características de carcaça

Ao final do experimento foram selecionados 63 suínos (31 machos castrados cirurgicamente e 32 fêmeas). No momento do abate, foi realizado a coleta de dados desses animais referente as características de carcaça, sendo as variáveis rendimento de carcaça, calculada através do peso carcaça  $\times 100 \div$  peso vivo; carne magra, calculada através de equação considerando a espessura de toucinho (mm) como preditor; espessura de toucinho, as medidas foram realizadas perpendicularmente a linha dorso lombar, em três pontos da carcaça, sendo na altura da primeira e última costela, e na última vértebra lombar; espessura do músculo, a medida da área foi realizada na altura da última costela, a seis centímetros da linha média de core da carcaça, com auxílio do paquímetro; carcaça quente, peso da carcaça após o abate (Bridi e Silva, 2009).

#### 3.2.3.4 Morfologia do fígado

Foram retirados fragmentos do fígado de 40 suínos divididos em oito tratamentos, no momento do abate e fixados em formol 10% (v/v). Após a fixação, o material foi desidratado em concentrações crescentes de etanol, embebido e incluído em parafina, seccionado em micrótomo com espessura de 3  $\mu$ m e corado com Hematoxilina e Eosina (HE) para avaliação



da resposta inflamatória quanto à celularidade sob microscopia de luz. Foi realizado cinco repetições para cada tratamento.

Após análise e seleção, as secções histológicas foram fotografadas com microscópio Olympus AX70 (aumento 400x), utilizando o programa T capture. A quantificação das células inflamatórias foi realizada utilizando o software Image J – cell counter com a contagem de 3 quadrantes padronizados por imagem. Para a avaliação da infiltração dos hepatócitos foi utilizado uma escala de 1 a 3, atribuindo 1 quando não foi observado infiltração e 3 para maiores infiltrações. A contagem dos hepatócitos e avaliação dos infiltrados foi realizada por duas pessoas treinadas e às cegas (sem conhecimento sobre o estudo, animal ou tratamento).

### 3.2.3.5 Análises estatísticas

Os dados de desempenho foram submetidos ao teste de normalidade, correlações e análise de variâncias a partir do modelo de efeitos mistos estimadas pela máxima verossimilhança restrita. As comparações entre os dados foram realizadas através do teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Os gráficos de efeitos principais e interações fatoriais foram obtidos a partir da análise de modelos mistos. Perfil hematológico e bioquímico foram submetidos a análise de variância de modelo linear generalizado considerando o efeito do indivíduo como covariável. As análises estatísticas foram realizadas pelo MINITAB.

## 3.3 RESULTADOS

### 3.3.1 Desempenho

As características de desempenho animal estão apresentadas na tabela 8. Não houve interações entre os efeitos de níveis de colina, metionina e sexo. O peso final dos suínos alimentados com níveis de metionina atendendo as exigências nutricionais foi 3,6% superior ( $P < 0,001$ ) em relação com exigências 15% abaixo do NRC (109,5 kg vs. 105,83 kg). Além disso, machos castrados apresentaram pesos ao abate 8% superiores ( $P < 0,01$ ) em relação às fêmeas (112,36kg vs. 103,27 kg de PV).

O consumo médio diário foi observado efeito da inclusão de colina, metionina e do sexo. Animais que receberam a inclusão de 500 ppm na dieta consumiram 2,8% a menos do que os animais do tratamento controle ( $P < 0,05$ ). Esse resultado também foi observado o tratamento que forneceu 15% de metionina abaixo do NRC ( $P < 0,001$ ). O consumo médio diário das fêmeas significativamente 9,6% menor do que os machos castrados ( $P < 0,001$ ).

Tabela 8 - Médias ajustadas a partir do modelo de efeitos mistos do desempenho de suínos em crescimento e terminação alimentados com dietas suplementadas com colina e metionina.

	Consumo de ração kg/d	Ganho médio diário kg/d	Conversão alimentar
<b>Níveis Colina</b>			
0	2,11 <sup>a</sup>	0,910	2,32
300	2,09 <sup>ab</sup>	0,884	2,36
500	2,05 <sup>b</sup>	0,896	2,28
700	2,08 <sup>ab</sup>	0,899	2,31
<b>Metionina</b>			
Rec NRC	2,11 <sup>a</sup>	0,915 <sup>a</sup>	2,31
-15% Rec NRC	2,05 <sup>b</sup>	0,879 <sup>b</sup>	2,33
<b>Sexo</b>			
Machos castrados	2,19 <sup>a</sup>	0,939 <sup>a</sup>	2,32
Fêmeas	1,98 <sup>b</sup>	0,855 <sup>b</sup>	2,31
<b>Probabilidade</b>			
EP estimado	0,178	0,042	0,102
Dpr	0,121	0,065	0,201
R2	88,29	70,77	44,56
REML	-295,82	-577,47	-49,01
<b>Efeitos fixos</b>			
Colina	0,022	0,197	0,164
Metionina	<0,001	<0,001	0,520
Sexo	<0,001	<0,001	0,580
<b>Efeitos aleatórios</b>			
Idade, d	0,111	0,113	0,114
Peso vivo, kg	-	0,329	-

<sup>2</sup> dpr : desvio padrão residual, <sup>3</sup> P: nível de significância Letras diferentes na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância. REML, máxima verossimilhança restrita

O ganho de peso diário apresentou diferença entre os tratamentos que atendiam o NRC, sendo 4% superior ao que forneceu 15% a menos da exigência ( $P < 0,05$ ). Também foi possível observar o efeito do sexo, machos castrados ganharam 8,9% mais peso do que as fêmeas. A conversão alimentar não apresentou diferença entre os tratamentos em todas as análises realizadas.

### 3.3.2 Variáveis Sanguíneas

Diferentes níveis de colina não influenciam ( $P > 0,10$ ) no perfil hematológico e bioquímico de suínos em crescimento e terminação. Entretanto, a suplementação de colina diminui os níveis de colesterol total ( $P < 0,05$ ) e aumenta a concentração de hemoglobina corpuscular (CHCM) ( $P < 0,001$ ).

Tabela 9 - Perfil hematológico e bioquímico sérico de suínos alimentados com dieta contendo diferentes níveis de colina e metionina

Variáveis	Colina		Metionina		Sexo			Probabilidade			
	Sem	Com	Rec NRC	-15%Rec	MC	F	Dpr	C	M	S	I <sup>1</sup>
Colesterol total, Mg/dL	95,27	89,39	91,98	89,73	93,6	88,1	11,0	*	ns	**	ns
Insulina, µU/mL	12,94	11,54	12,22	11,56	13,4	10,4	7,55	ns	ns	ns	ns
Glucagon, Mcg/L	212,5	203,9	208,1	204,0	214,3	197,9	33,5	ns	ns	**	ns
Fosfatase alcalina, U/L	143,9	144,3	148,2	140,3	141,5	147,0	43,9	ns	ns	ns	ns
GH, Mcg/L	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,001	ns	ns	ns	ns
Hemoglobina, g/dL	12,80	13,34	13,15	13,25	13,06	13,34	1,14	ns	ns	ns	ns
Hematócrito, %	42,19	41,59	41,59	41,89	41,96	41,52	4,50	ns	ns	ns	**
Eritrócitos	7,12	7,28	7,13	7,36	7,29	7,20	0,57	ns	ns	ns	ns
Plaquetas	327,3	297,8	295,3	315,1	318,0	292,4	63,9	ns	ns	ns	**
VCM	59,23	57,25	58,46	57,03	57,7	57,8	5,78	ns	ns	ns	***
HCM	17,99	18,35	18,47	18,04	17,9	18,6	1,40	ns	ns	*	**
CHCM	30,72	32,14	31,73	31,85	31,36	32,23	1,65	***	ns	ns	ns
RDW	22,12	22,60	22,53	22,42	23,05	21,90	1,60	ns	ns	***	ns
MPV	11,05	11,05	11,10	10,99	11,10	10,99	2,09	ns	ns	ns	**

GH: Hormônio do crescimento; VCM: Volume Corpuscular Médio; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM: Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: Índice Geral de Anisocitose; MPV: volume plaquetário médio. Efeitos C: colina; M: metionina; S: sexo; I: Indivíduo. <sup>1</sup>fontes de colina; <sup>2</sup>utilizado como covariável. Ns, não significativo, \* P<0,10; \*\*P<0,05; \*\*\*P<0,01.

Para as variáveis sanguíneas foi incluído na análise o efeito da baia, representado como indivíduo. A porcentagem de hematócritos, plaquetas, hemoglobina corpuscular média, volume plaquetário médio ( $P<0,01$ ) e volume corpuscular médio ( $P<0,001$ ) tiveram influência da baia. Apesar de não ter apresentado diferenças estatísticas foi possível observar uma tendência de diminuição da concentração de glucagon com a inclusão de colina na dieta.

### 3.3.3 Características de Carcaça

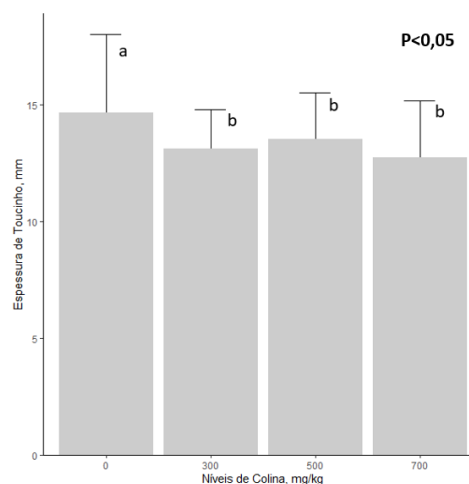
As variáveis peso ao abate, peso da carcaça quente, espessura de músculo e rendimento de carcaça não diferiram entre os tratamentos. O tratamento com nível zero de colina + metionina 15% abaixo do NRC apresentou a maior espessura de toucinho. Essa característica de carcaça também sofreu efeito do sexo dos animais. A porcentagem de carne magra teve diferença significativa com a presença da colina, visto que é uma variável correlacionada com a espessura de carcaça.

Tabela 10 - Características de carcaça de suínos alimentados com dieta contendo ou não colina.

	Colina		Sem Colina		Sexo		dpr	Efeitos		
	Rec NRC	- 15%Rec	Rec NRC	- 15%Rec	Macho	Fêmea		Col	Met	Sexo
PA, kg	107,6	104,6	111,06	110,14	109,46	105,0	9,67	ns	ns	ns
PCQ, kg	72,96	69,61	75,67	74,67	73,84	70,59	7,58	ns	ns	ns
EM, mm	71,12	71,32	71,42	69,38	71,23	70,87	2,98	ns	ns	ns
ET, mm	13,41	12,84b	13,41	16,06 <sup>a</sup>	14,25	12,76	2,47	*	ns	*
CM, %	58,70	59,11	58,87	56,68	58,20	59,09	1,76	*	ns	ns
RC, %	67,61	66,44	68,06	67,49	67,40	67,02	2,17	ns	ns	ns

PA: Peso ao abate, PCQ: Peso da carcaça quente, EM: Espessura de músculo, ET: Espessura de toucinho, CM: Carne magra, RC: Rendimento de carcaça, dpr: desvio padrão residual, Col: colina, Met: metionina. Ns: não significativo, \* $P<0,05$ .

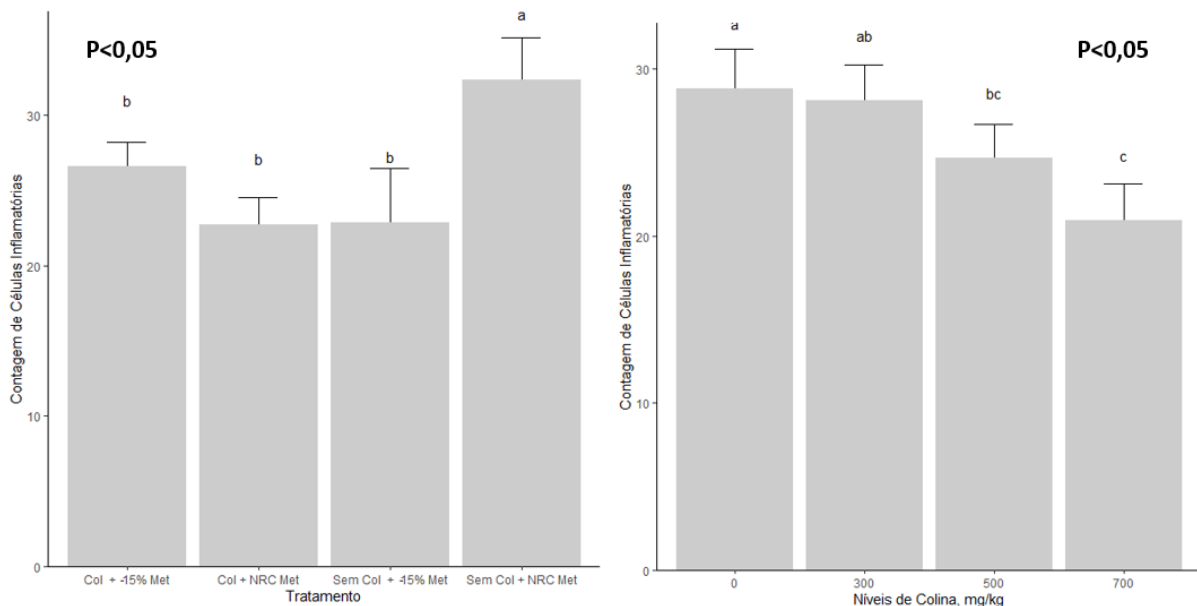
Figura 8 - Efeito da suplementação de colina na espessura de toucinho de suínos.



### 3.3.4 Morfologia do Fígado

Para este estudo foi realizado a contagem de células inflamatórias presentes no fígado, apresentado na figura 10. O número de células inflamatórias sofreu influência da suplementação de colina ( $P < 0,05$ ), e não teve efeito da presença de metionina. O tratamento que mais diferiu na análise foi os animais que receberam a dieta sem colina e com o nível correto de metionina, apresentando maior número de células inflamatórias. O nível de colina na dieta também foi significativo ( $P < 0,05$ ), sendo o nível zero de suplementação com maior número de células e o nível 700 ppm de colina, com menor número de células.

Figura 9 - Contagem de células inflamatórias no fígado de suínos suplementados com diferentes níveis de colina e metionina.



Além da contagem de células, este estudo avaliou através das imagens das porções do fígado a presença de infiltração dos hepatócitos. Na figura 13 é possível observar que os animais que receberam a suplementação de colina – 15% de metionina apresentaram, na média, a maior infiltração dos hepatócitos, enquanto os animais que receberam colina e o nível ótimo de metionina tiveram menor infiltração hepática. Nas imagens (Figura 14) é possível observar maior infiltração para o tratamento Colina -15% Met.

Figura 10 - Escore de infiltrados hepatócitos no fígado de suínos suplementados com diferentes níveis de colina e metionina.

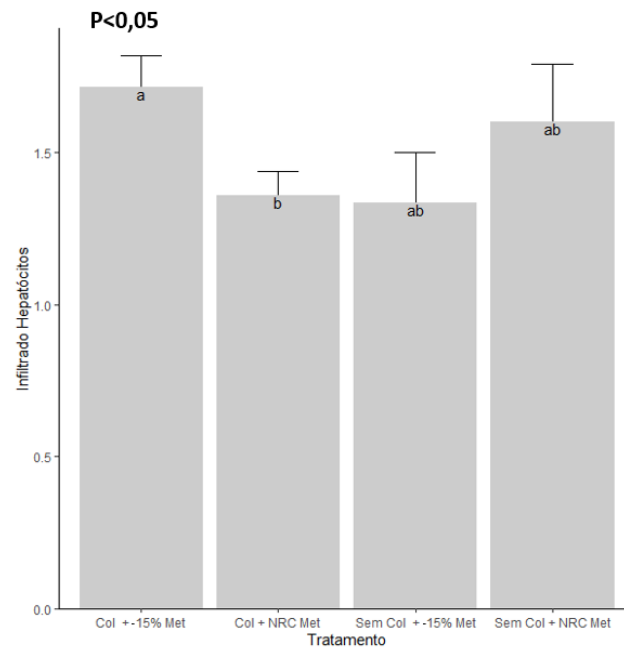
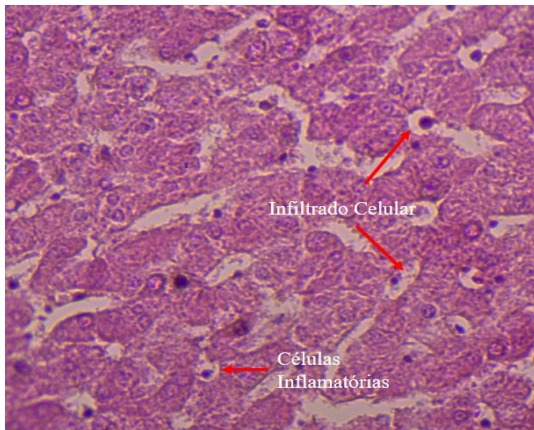
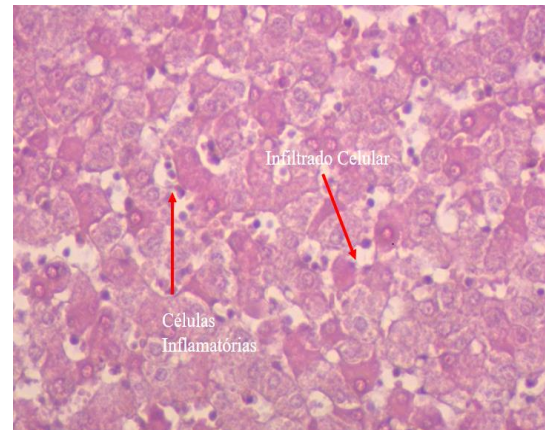


Figura 11 - Seções histológicas do fígado de suínos terminados alimentados com dietas com diferentes níveis de colina e metionina.

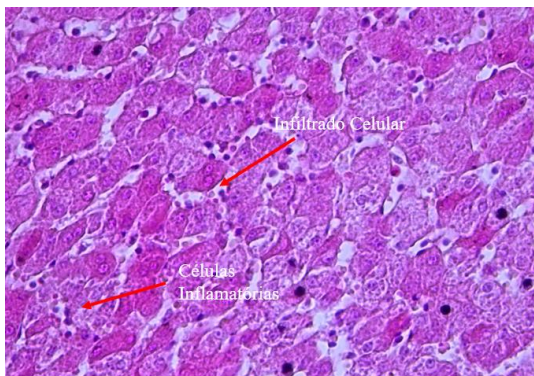
a) Col + -15% Rec NRC



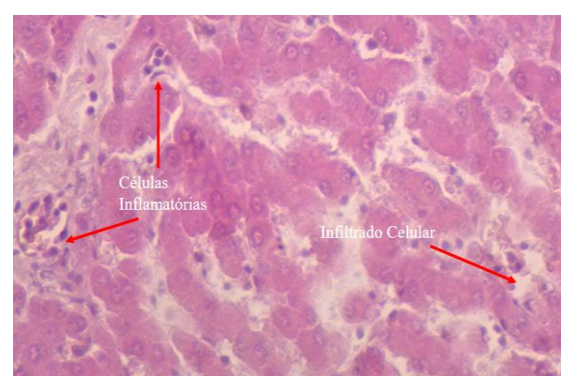
b) Col + Rec NRC



c) Sem Col + -15% Rec NRC



d) Sem Col + Rec NRC



### 3.4 DISCUSSÃO

O presente estudo identificou que mesmo quando a metionina na dieta é deficiente, a suplementação de colina não é capaz de melhorar as características de ganho de peso e conversão alimentar. A principal função da colina no organismo animal é ser fonte de grupos metil, os quais participam do processo de formação da metionina. Estudos anteriores demonstraram que a suplementação de dietas livres ou deficientes em metionina, podem melhorar o desempenho de crescimento dos suínos, devido a melhora na retenção do nitrogênio e acúmulo de proteína muscular (Wen et al., 2014; Zimmermann et al., 2005), fato este que não ocorreu neste trabalho.

A metionina participa da síntese de proteínas e peptídeos, sendo responsável pelo códon de iniciação do mRNA, início do processo de formação do músculo (Yang et al., 2021; Wen et al., 2014). A presença de metionina dietética suficiente na dieta ativaria a via de sinalização GH-IGF e mTor, estimulando a síntese de proteínas, lipídeos e glicose em todo o corpo. Já a deficiência de metionina pode deprimir a síntese de nutrientes através do acúmulo de tRNA não ativado (Geng et al., 2023). A metionina pode auxiliar na biossíntese de colina e a suplementação de colina contribui para poupar a utilização da betaína para gerar enxofre contendo aminoácidos, apoiando o desempenho animal (Xie et al., 2023). Segundo estudos sobre a interação de metionina e colina para monogástricos, na ausência de metionina suficiente, a colina pode melhorar a eficiência alimentar e aumentar o ganho de peso, porém, não de forma significativa, como foi observado no presente estudo. Diferente da metionina, a colina não está diretamente envolvida na síntese proteica, mas pode modificar a absorção e utilização de nutrientes (Lu et al., 2022; Geng et al., 2023). Estes estudos corroboram os nossos resultados de desempenho, de que a suplementação com metionina estimulou maior deposição proteica, enquanto o efeito promotor da colina não foi significativo.

Praticamente todas as características de desempenho tiveram influência do sexo. Suínos castrados cirurgicamente tendem a ter um consumo de energia superior em relação as fêmeas, elevando seu consumo e conseqüentemente o ganho de peso. Porém, animais castrados possuem maiores níveis de hormônios esteroides no organismo, que podem contribuir para maior deposição de gordura e menor deposição de proteína (Morales et al., 2010; Rodrigues et al., 2017). Fato que foi possível identificar em relação a espessura de toucinho, onde machos castrados tiveram uma maior espessura do que as fêmeas.

No presente trabalho foi identificado a diminuição do colesterol total nos animais que receberam a suplementação de colina. A suplementação dietética de colina melhora as funções

hepáticas, mantendo a homeostase do colesterol (Zheng et al., 2022). O fígado é o principal órgão responsável pelo metabolismo da colina. Neste, a colina é convertida em fosfatidilcolina, necessária para a formação e secreção de VLDL (lipoproteínas de muito baixa densidade).

As lipoproteínas são complexos de lipídios e proteínas específicas, responsáveis pelo transporte de colesterol e triglicerídeos através do sangue. São classificadas em lipoproteínas de alta, média, baixa e muito baixa densidade. A VLDL tem como função levar o colesterol e triglicerídeos pelo sangue até os tecidos muscular e adiposo. Além disso, o catabolismo de VLDL é uma via de síntese do HDL (lipoproteína de alta densidade). O HDL, também conhecido por colesterol bom, é responsável pelo transporte reverso do colesterol, removendo o excesso de fosfolipídeos e colesterol presente nas células. O colesterol captado pelos hepatócitos novamente é eliminado pela bile e fezes (Ludke, Lopez, 1999; Lund-Katz; Phillips, 2010). Se a fosfatidilcolina não estiver suficiente no organismo, a secreção de VLDL é prejudicada (Abbasi et al., 2017). Diante disso, é sugestivo que a suplementação de colina aumentou a síntese de VLDL e HDL no organismo animal, diminuindo os níveis de colesterol total. Em um estudo sobre o efeito da suplementação de colina para peixes, o colesterol HDL aumentou com o acréscimo de colina na dieta (Lund-Katz; Phillips, 2010, Lin et al., 2021).

Dietas com baixo teor de proteínas podem resultar em insuficiência de aminoácidos essenciais, como lisina e metionina, como o caso deste estudo que estava com déficit de metionina. A metionina e lisina são precursoras da carnitina, envolvida no transporte de ácidos graxos de cadeia longa para as mitocôndrias, local que serão catabolizados. A metionina é doadora de metil para outras moléculas, e nesse processo pode ser convertida em S-adenosilmetionina. A S-adenosilmetionina está envolvida na síntese de fosfatidilcolina. Além disso, baixos níveis desses aminoácidos podem acelerar o acúmulo de gorduras nos hepatócitos, causando a balonização de hepatócitos. Este processo pode elevar a concentração de citocinas pró-inflamatórias, interleucina-6 e fator de necrose tumoral alfa, indicando a presença de esteatose hepática (Ayala et al., 2010, Cronje, 2016).

Apesar de não apresentar diferença significativa entre tratamentos, este estudo identificou uma tendência na diminuição dos níveis séricos de glucagon conforme a suplementação de colina aumentou. O glucagon desempenha um papel crucial na regulação da glicose plasmática, aumentando a degradação do glicogênio e promovendo a gliconeogênese. A presença de colina na dieta pode aumentar o glucagon plasmático, induzindo intolerância à glicose e à insulina (WU et al., 2013). Entretanto, os níveis de insulina não foram alterados nos diferentes tratamentos. Concentração de hemoglobina corpuscular média é um índice utilizado



para determinar hipocromia, ou seja, redução avermelhada das hemácias e está associada à redução da hemoglobina dentro das células, associada a anemia. Neste estudo, apesar de apesar diferença estatística entre os tratamentos com e sem colina, os valores hematimétricos estavam todos dentro dos níveis de referência (CHCM = 30 a 34%) (Schalm et al., 2010).

Dentre as características de carcaça, a espessura de toucinho apresentou influência da colina. Animais que receberam uma quantidade menor de metionina e zero colina tiveram as maiores espessuras de toucinho. Diante do que já foi exposto sobre metabolismo, a deficiência de metionina e colina interfere em alguns processos metabólicos. Doadores de metil quando insuficientes podem causar acúmulo de ácidos graxos nos tecidos, tornando-os menos responsivos a insulina, liberando mais ácidos graxos na circulação. Além disso, aumenta a concentração de TNF, acumulando triglicerídeos no fígado, ocorrendo a deposição de gordura. A suplementação de colina mesmo em níveis inadequados de metionina foi capaz de diminuir a deposição de gordura, através de processos como a remetilação da metionina, reduzindo os níveis de homocisteína, diminuindo o substrato presente para síntese de ácidos graxos e consequente deposição de gordura (Lawrence, 2002; Cronje, 2016).

A contagem de células inflamatórias no fígado foi impactada pela presença de colina, onde observamos que o tratamento que não recebeu colina apresentou mais células inflamatórias, visto que, conforme o nível de colina aumentou o número de células também de diminuiu. Níveis reduzidos de colina no organismo diminuem a relação fosfatidilcolina:fosfatidiletanolamina, desencadeando processos inflamatórios que afetam negativamente a permeabilidade da membrana plasmática, promovendo a infiltração de neutrófilos e outros macrófagos, aumentando a lesão dos hepatócitos mediado por citocinas (Aziza; Awadin; Cherian, 2019). A suplementação de colina associado a níveis ótimos de metionina promoveu menor infiltração hepática, diminuindo o risco de acúmulo de gordura no fígado. Como citado anteriormente, o VLDL transporta o colesterol e triglicerídeos para fora do fígado, assim, a falta de colina resulta na menor formação de fosfaditilcolina e VLDL, reduzindo o efeito citoprotetor (Lin et al., 2021).

Situações de estresse podem diminuir a função hepática. Durante o estresse, os adipócitos ficam sensíveis à lipase, e o triacilglicerol depositado é decomposto em glicerol e ácidos graxos não esterificados ou ácidos graxos livres que são transportados para o fígado. O aumento desse transporte contínuo de ácidos graxos não esterificados em direção ao fígado causa diretamente inflamação hepática (Abbasi et al., 2017). Em vacas, a colina também

funciona como um antioxidante, possuindo propriedades antioxidantes que protegem as células e reduz a produção de radicais livres que danificam as células do fígado (Abbasi et al., 2017).

Em poedeiras, a suplementação de colina dietética melhorou o status antioxidante, reduziu o conteúdo lipídico total no tecido hepático, no entanto, não foi eficaz na atenuação das alterações histopatológicas do fígado gorduroso (Aziza; Awadin; Cherian, 2019). Peixes que apresentaram lesões hepáticas em vários graus induzidos pela dieta, tiveram a resposta inflamatória aliviada pelo consumo de mais colina na dieta e pela remoção do inibidor de síntese de colina (Lin et al., 2021).

Estudos recentes em suínos relataram que a suplementação de 0,05% de cloreto de colina pôr 96 dias aumentou significativamente o ganho de peso corporal (Zhan et al., 2023). No entanto, a utilização de cloreto de colina indicou uma diminuição no peso corporal de leitões, quando fornecido para porcas e leitões, sendo associado pelo autor as variações na composição das dietas basais (Qiu et al., 2021). Na terminação, a colina reduziu os níveis de triglicerídeos, sugerindo seu papel positivo na redução do estresse oxidativo e auxiliando no ganho de peso (Xie et al., 2023).

As exigências nutricionais dos animais têm sido modificadas devido a mudanças e avanços nos componentes dietéticos e na genética. Esta situação leva a avaliar as necessidades de determinados ingredientes e aditivos utilizados na dieta, como é o exemplo da colina. O número de estudos realizados com suínos sobre a suplementação de colina ainda é muito reduzido, principalmente na fase de crescimento e terminação. São necessários mais estudos quanto a avaliação morfológica do fígado com a suplementação de colina, principalmente nessa fase, já que não foram encontrados muitos estudos. A interação da colina com outras moléculas doadoras de metil, que interferem diretamente nas exigências de nutricionais de aminoácidos e vitaminas, e afetam o metabolismo animal deve ser considerado no momento de avaliar a utilização da colina.

### 3.5 CONCLUSÃO

A inclusão de 15% a menos de metionina do que o recomendado pelo NRC piora o desempenho animal. A suplementação de colina em dietas de suínos em crescimento e terminação não altera o desempenho, porém diminui a espessura de toucinho na carcaça. Uso de colina diminui os níveis de colesterol total e a resposta inflamatória hepática em suínos na terminação.

## REFERÊNCIAS

- ABBASI, I. H. R. et al. Considering choline as methionine precursor, lipoproteins transporter, hepatic promoter and antioxidant agent in dairy cows. **Amb Express**, China, v. 7, n. 214, p. 1-9, 2017.
- AYALA, J. et al. Effects of fat and rumen-protected methionine supplementation on production response of first-lactation cows. *Acta Agriculturae Scandinavica*, **Animal Science**, v. 60, n. 3, p. 159-165, 2010. <http://dx.doi.org/10.1080/09064702.2010.511254>.
- AZIZA, A.E.; AWADIN, W.; CHERIAN, G. Impact of choline supplementation on hepatic histopathology, phospholipid content, and tocopherol status in layer hens fed flaxseed. **Journal Of Applied Poultry Research**, v. 28, n. 3, p. 679-687, 2019. <http://dx.doi.org/10.3382/japr/pfz019>.
- BRIDI, A.M.; SILVA, C.A. **Avaliação da carne suína**. Londrina: Midiograf, 2009.
- CRONGE, P. B. Essential role of methyl donors in animal productivity. **Csiro Publishing**, 2016.
- GENG, H et al. Dietary choline can partially spare methionine to improve the feeds utilization and immune response in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*): based on phenotypic response to gene expression. **Aquaculture Reports**, v. 30, p. 1-15, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101546>
- LAWRENCE, B. V.; SCHINCKEL, A. P.; ADEOLA, O.; CERA, K. Impact of Betaine on Pig Finishing Performance and Carcass Composition. **Department of Animal Sciences**, Purdue University, West Lafayette, p. 475-482, 2002.
- LIN, C. et al. A novel chicken model of fatty liver disease induced by high cholesterol and low choline diets. **Poultry Science**, v. 100, n. 3, p. 1-13, 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psj.2020.11.046>.
- LU, J.J. et al. Dietary choline promotes growth, antioxidant capacity and immune response by modulating p38MAPK/p53 signaling pathways of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Fish Shellfish Immunology**, v. 131, p.827–837, 2022. doi: 10.1016/j.fsi.2022.10.062.
- LUDKE, M. C. M. M.; LÓPEZ, J. Colesterol e composição dos ácidos graxos nas dietas para humanos e na carcaça suína. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 1, p.181-187, 1999.
- LUND-KATZ, S.; PHILLIPS, M. C. High density lipoprotein structure–function and role in reverse cholesterol transport. **Cholesterol Binding and Cholesterol Transport Proteins**, v. 51, p. 183-227, 2010. [http://dx.doi.org/10.1007/978-90-481-8622-8\\_7](http://dx.doi.org/10.1007/978-90-481-8622-8_7).
- MORALES, J. et al. Evaluation of production performance and carcass quality characteristics of boars immunised against gonadotropin-releasing hormone (GnRH) compared with physically castrated male, entire male and female pigs. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 3, p. 599-606, 2010.
- MURAWSKA, D. et al. The effect of different dietary levels and sources of methionine on the growth performance of turkeys, carcass and meat quality. **Annals of Animal Science**, v. 18, n. 2, p. 525-540, 2018.
- NRC. **Nutrient Requirements of Swine**. Washington, D.C.: National Academies Press, 2012.
- OLGUN, O. et al. Performance, egg quality, and yolk antioxidant capacity of the laying quail in response to dietary choline levels. **Animals**, v. 12, n. 23, 2022.
- QIU HE et al. Methyl-Donor micronutrient for gestating sows: effects on gut microbiota and metabolome in offspring piglets. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, p. 1-15, 2021.

RODRIGUES, G. F. et al. **Desempenho e qualidade de carcaça de suínos machos castrados, fêmeas e machos imunocastrados de diferentes potenciais genéticos**. *Colloquium Agrariae*, v. 13, n. 3, p. 107-114, 2017.

SCHALM, O. W.; WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.

WEN, C. et al. Methionine improves breast muscle growth and alters myogenic gene expression in broilers. **Journal of Animal Science**, v. 92, p. 1068-1073, 2014. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6485>.

WU, G et al. Choline supplementation promotes hepatic insulin resistance in phosphatidylethanolamine N-methyltransferase-deficient mice via increased glucagon action. **Journal Of Biological Chemistry**, v. 288, n. 2, p. 837-847, 2013. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.m112.415117>.

XIE, Z. et al. Short-term dietary choline supplementation alters the gut microbiota and liver metabolism of finishing pigs. **Frontiers In Microbiology**, v. 14, p. 1-15, 2023. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2023.1266042>.

YANG, Z.; HTOO, J. K.; LIAO, S. F. Methionine nutrition in swine and related monogastric animals: Beyond protein biosynthesis. **Animal Feed Science and Tecnology**, v. 268, 2020.

YANG, Z. et al. Changes in growth performance, plasma metabolite concentration, and myogenic gene expression in growing pigs fed a methionine-restricted diet. **Frontiers in Bioscience-Landmark**, v. 26, n. 9, p. 413-422, 2021.

ZHAN, X. et al. Choline supplementation regulates gut microbiome diversity, gut epithelial activity, and the cytokine gene expression in gilts. **Frontiers Nutrition**, v. 10, 2023. doi: 10.3389/fnut.2023.1101519

ZHENG, H et al. Dietary choline prevents high fat-induced disorder of hepatic cholesterol metabolism through SREBP-2/HNF-4 $\alpha$ /CYP7A1 pathway in a freshwater teleost yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - Gene Regulatory Mechanisms**, v. 1865, n. 7, 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagr.2022.194874>.

ZIMMERMANN B. et al. Comparative studies on the relative efficacy of DL-methionine and liquid methionine hydroxyl analogue in growing pigs. **Asian-Australas. Journal of Animal Science**, v. 18, p. 1003–1010, 2005.