

Oliveira, EB, Cardoso, AS, Guerra, RR, Vieira, DVG, Costa, FGP, Fernandes, ML, Ayres, ICB, Nascimento, DS & Lima, MR, (2020). Potential for the use of betaine associated or not with choline chloride in Japanese quail diets. *Research, Society and Development*, 9(7): 1-24, e420974255.

Potencial de uso da betaína associada ou não à colina em dietas de codornas japonesas
Potential for the use of betaine associated or not with choline chloride in Japanese quail diets

Potencial para el uso de betaína asociada o no con cloruro de colina en dietas de codorniz japonesa

Recebido: 05/05/2020 | Revisado: 07/05/2020 | Aceito: 11/05/2020 | Publicado: 20/05/2020

Elizângela Bonfim de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0617-2028>

Universidade Estadual da Santa Cruz, Brasil

E-mail: elizbam@hotmail.com

Anilma Sampaio Cardoso

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8494-2032>

Universidade Estadual da Santa Cruz, Brasil

E-mail: anilma5@hotmail.com

Ricardo Romão Guerra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8226-8606>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: rromaoguerra@gmail.com

Danilo Vargas Gonçalves Vieira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7407-9597>

Universidade Federal do Tocantins, Brasil

E-mail: danilovargaszoo@hotmail.com

Fernando Guilherme Perazzo Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4075-1792>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: perazzo63@gmail.com

Miriam Lima Fernandes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7618-0798>

Universidade Estadual de Santa Cruz, Brasil

E-mail: mirianlima.lima48@hotmail.com

Iva Carla de Barros Ayres

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4295-9108>

Universidade Federal da Paraíba, Brasil

E-mail: ivacarlabarros@gmail.com

Daniel Sales do Nascimento

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9688-4466>

Universidade Federal do Sul da Bahia, Brasil

E-mail: dan.sales26@gmail.com

Matheus Ramalho de Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9897-6209>

Universidade Federal do Sul da Bahia, Brasil

E-mail: mrlmatheus@ufsb.edu.br

Resumo

Avaliou-se o uso da betaína associada ou não com cloreto de colina 70% em rações de codornas japonesas na fase de postura. Foram utilizadas 504 codornas japonesas (*Coturnix coturnix Japonica*) de 104 a 208 dias de idade, em esquema fatorial 3x2+1, delineamento inteiramente casualizado, sete tratamentos, nove repetições, oito aves por unidade experimental. A betaína foi suplementada em 20% do nível de metionina digestível da dieta controle, nas dietas com betaína reformulada o nível de enriquecimento foi da matriz nutricional do produto (100%) e com valorização extra de 5% (105%). O cloreto de colina foi fixado em 0,07%. Analisou-se desempenho produtivo, qualidade de ovos, histometria e número de células caliciformes do duodeno e glicogênio hepático. O uso da betaína promoveu maior peso dos ovos em relação ao controle, independentemente do modo de uso, o uso da colina promoveu resultado superior no peso dos ovos. Na qualidade dos ovos, somente percentual de casca foi influenciado. O uso da betaína reformulada 100% da matriz promoveu maior altura dos vilos, e menor relação vilo: cripta em relação ao tratamento com a reformulação enriquecida em 105%. O glicogênio hepático não foi influenciado. Nas células caliciformes, a reformulação em 105% extras da matriz foi superior a matriz em 100%. A

colina reduziu altura dos vilos, melhorou relação vilo:cripta e número de células caliciformes. Em conclusão, a betaína reformulada enriquecida em mais 5% de sua matriz nutricional substitui o uso de cloreto de colina nas rações de codornas japonesas em postura.

Palavras-chave: Desempenho; Histologia; Grupos metílicos; Integridade intestinal; Metabolismo animal.

Abstract

The use of betaine associated or not with choline chloride 70% in Japanese quail diets in the laying phase was evaluated. 504 Japanese quails (*Coturnix coturnix Japonica*) were used from 104 to 208 days old, in a 3x2 + 1 factorial design, completely randomized design, seven treatments, nine replications, eight birds per experimental unit. Betaine was supplemented in 20% of the digestible methionine level of the control diet, in diets with reformulated betaine the level of enrichment was in the nutritional matrix of the product (100%) and with an extra recovery of 5% (105%). Choline chloride was fixed at 0.07%. Productive performance, egg quality, histometry, and the number of goblet cells from the duodenum and hepatic glycogen were analyzed. The use of betaine promoted greater weight of the eggs to the control, regardless of the mode of use, the use of choline promoted a superior result in the weight of the eggs. In egg quality, only shell percentage was influenced. The use of the reformulated betaine 100% of the matrix promoted greater height of the villi, and a lower villus: crypt ratio to the treatment with the reformulation enriched by 105%. Hepatic glycogen was not influenced. In goblet cells, the reformulation in an extra 105% of the matrix was superior to the matrix in 100%. The hill reduced villus height, improved villus: crypt ratio, and number of goblet cells. In conclusion, the reformulated betaine enriched in an additional 5% of its nutritional matrix replaces the use of choline chloride in the laying of Japanese quail diets.

Keywords: Performance; Histology; Methyl groups; Intestinal integrity; Animal metabolism.

Resumen

Se evaluó el uso de betaína asociada o no con cloruro de colina al 70% en dietas de codorniz japonesa en la fase de puesta. Se utilizaron 504 codornices japonesas (*Coturnix coturnix Japonica*) de 104 a 208 días de edad, en un diseño factorial 3x2 + 1, diseño completamente al azar, siete tratamientos, nueve repeticiones, ocho aves por unidad experimental. La betaína se complementó en un 20% del nivel de metionina digerible de la dieta de control, en las dietas con betaína reformulada el nivel de enriquecimiento se encontraba en la matriz nutricional del producto (100%) y con una recuperación adicional del 5% (105%). El cloruro de colina se fijó

al 0,07%. Se analizó el rendimiento productivo, la calidad del huevo, la histometría y el número de células caliciformes del duodeno y el glucógeno hepático. El uso de betaína promovió un mayor peso de los huevos al control, independientemente del modo de uso, el uso de colina promovió un resultado superior en el peso de los huevos. En la calidad del huevo, solo el porcentaje de cascarón fue influenciado. El uso de la betaína reformulada al 100% de la matriz promovió una mayor altura de las vellosidades, y una relación vellosidad: cripta más baja al tratamiento con la reformulación enriquecida en un 105%. El glucógeno hepático no fue influenciado. En las células caliciformes, la reformulación en un 105% adicional de la matriz fue superior a la matriz en un 100%. La colina redujo la altura de las vellosidades, mejoró la relación vellosidad: cripta y el número de células caliciformes. En conclusión, la betaína reformulada enriquecida en un 5% adicional de su matriz nutricional reemplaza el uso de cloruro de colina en la colocación de las dietas japonesas de codorniz.

Palabras clave: Rendimiento; Histología; Grupos metilo; Integridad intestinal; Metabolismo animal.

1. Introdução

A betaína é um composto metabólico proveniente da oxidação da colina que deriva da perda do grupamento metil a partir da colina no ciclo da adenosil-metionina à cisteína, dessa forma, atua como poupador de metionina e/ou colina nas funções metabólicas (Paniz, et al., 2005). Este fato, promove um maior potencial de destinação de metionina para síntese proteica (Metzler, et al., 2009), o que pode reduzir o uso de fontes de metionina e colina nas dietas. No entanto, a betaína age exclusivamente como um doador de metil para a homocisteína, e ainda pode aumentar a resistência osmótica das células, evitando a perda de água impedindo a desidratação celular em condições de estresse (Park & Park, 2017).

A deficiência de colina nas aves causa síndrome e perose do fígado gordo e distúrbios na mobilização da gordura hepática devido à baixa disponibilidade de lipoproteínas transportadoras (Pompeu, et al., 2011; Selvam, et al., 2018). Em linhagens de frangos de crescimento rápido, a deficiência de colina também resulta em retardo de crescimento e deformação óssea (Igwe, et al., 2015). As aves afetadas tendem a sofrer rotação tibial-tarso, luxação do tendão (gastrocnêmio) e mais frequentemente espessamento da articulação da perna; em aves adultas, problemas como ascites e cirrose também podem ocorrer (Selvan, et al., 2018). Para evitar os efeitos deletérios da deficiência de colina nas dietas, são necessárias fontes de suplementação de alta disponibilidade. Normalmente, isso é feito com fontes

sintéticas, geralmente moléculas à base de cloreto de colina, pois é a forma mais amplamente disponível no mercado. No entanto, aproximadamente 70% do cloreto de colina não é absorvido no intestino e, em vez disso, as bactérias intestinais o convertem em trimetilamina (TMA) (Hoyles, et al., 2018), um composto tóxico (Fallah, et al., 2016; Landfald, et al. 2017).

Atualmente, existem alguns compostos à base de plantas que contêm quantidades significativas de colina em sua composição, sendo alternativas ao cloreto de colina na suplementação de colina para ração. Eles têm grandes quantidades disponíveis de fosfatidilcolina, fosfatidilinositol e fosfatidiletanolamina (Calderano, et al., 2015; Farina, et al., 2017), que devido à sua alta afinidade por receptores intestinais, fornecem maior biodisponibilidade da colina do que o cloreto de colina. Esses compostos vegetais são menos higroscópicos e não prejudicam a integridade de outras moléculas presentes nos nutrientes. Finalmente, a molécula não é convertida em trimetilamina no intestino e, de fato, não gera compostos tóxicos no trato digestivo.

A metionina atua como doador de grupos metílicos ativos em que ocorre a reação após a conversão em S-adenosilmetionina (D'Mello, 2003), em que é exigida para a biossíntese de substâncias como a cisteína, carnitina, poliaminas, epinefrina, melatonina e colina (Baker, et al. 1996), logo a deficiência desse aminoácido influencia diretamente no crescimento e eficiência produtiva das aves e ainda, pode gerar efeitos negativos nos rins e no fígado (Brumano, et al. 2008). A metionina, por ser o primeiro aminoácido limitante na nutrição das aves, a suplementação deste aminoácido é fator essencial para uma boa produção das codornas japonesas em postura.

Devido às características químicas similares, há uma forte interação entre esses compostos, ou seja, entre a metionina, a colina e a betaína. O ideal ajuste entre o suporte de metionina, proveniente da DL-Metionina e da betaina, associada ou não ao uso de colina nas rações é um fator a ser estudado. Assim considerando, o objetivo do estudo foi avaliar o potencial de uso da betaína associada ou não à colina em dietas de codornas japonesas em postura.

2. Metodologia

Uma pesquisa visa alcançar novos saberes para a sociedade como preconizam Pereira et al. (2018) e para tanto tornam-se importantes as metodologias que apontam os caminhos e possibilitam a reprodutibilidade dos fenômenos. O presente experimento foi conduzido no setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias da

Universidade Federal da Paraíba, Campus II, Areia – PB, aprovado pelo CEUA UFPB sob o protocolo (142/2017).

Foram utilizadas 504 codornas fêmeas da espécie *Cortunix cortunix* (Japônica) de 104 a 208 dias de idade, alojadas em gaiolas específicas para codornas japonesas em postura, com programa de luz (natural + artificial) de 17 horas por dia e com média de postura de ovos em $81 \pm 5,84\%$. A mortalidade e as sobras de ração (g) foram contabilizadas para ajuste nas variáveis mensuradas.

O experimento foi organizado em um esquema fatorial $3 \times 2 + 1$, 3 formas de uso Betaína (OnTop, Reformulada 100% e Reformulada 105%), 2 formas de uso da Colina (Sem e Com) e 1 Controle, totalizando 7 tratamentos em 9 repetições com 8 aves cada. As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, seguindo as recomendações de Rostagno, et al., (2017), apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição alimentar e nutricional calculada das rações experimentais para codornas japonesas em postura suplementadas com betaína ontop e reformulada de forma isolada ou em associação com colina.

Descrição	DC	BetTop	BetTop + Col	BetRef	BetRef + Col	BetRef5	BetRef5 + Col
Milho	53,048	53,048	53,048	53,086	53,086	53,096	53,096
Farelo de Soja	35,262	35,262	35,262	35,267	35,267	35,266	35,266
Calcário	7,200	7,200	7,200	7,200	7,200	7,200	7,200
Óleo de Soja	2,124	2,124	2,124	2,167	2,167	2,165	2,165
Fosfato Bicálcico	1,195	1,195	1,195	1,195	1,195	1,195	1,195
Sal	0,346	0,346	0,346	0,346	0,346	0,346	0,346
Inerte	0,235	0,108	0,038	0,148	0,078	0,148	0,078
DL-Metionina	0,344	0,344	0,344	0,217	0,217	0,211	0,211
L-Lisina	0,097	0,097	0,097	0,097	0,097	0,097	0,097
Cloreto de Colina 70%	---	---	0,070	---	0,070	---	0,070
Premix Mineral ¹	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Premix Vitamínico ²	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Betaína	---	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127	0,127
	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Descrição	DC	BetTop	BetTop + Col	BetRef	BetRef + Col	BetRef5	BetRef5 + Col
Proteína Bruta, %	20,681	20,681	20,681	20,670	20,670	20,670	20,670
Cálcio, %	3,158	3,158	3,158	3,158	3,158	3,158	3,158
Fósforo Disponível, %	0,327	0,327	0,327	0,327	0,327	0,327	0,327
Energia metabolizável, kcal/kg	2800	2800	2800	2800	2800	2800	2800
Ile %	0,816	0,816	0,816	0,816	0,816	0,816	0,816
Lys %	1,107	1,107	1,107	1,107	1,107	1,107	1,107
Met Dig. %	0,633	0,633	0,633	0,634	0,634	0,634	0,634
M+C Dig. %	0,908	0,908	0,908	0,908	0,908	0,908	0,908
Thr Dig. %	0,699	0,699	0,699	0,698	0,698	0,698	0,698
Trp Dig. %	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232	0,232
Val Dig. %	0,868	0,868	0,868	0,868	0,868	0,868	0,868
Sódio %	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155	0,155
Cloro %	0,250	0,250	0,250	0,278	0,278	0,279	0,279
Potássio %	0,794	0,794	0,794	0,794	0,794	0,794	0,794

¹Premix Vitamínico (concentração/kg de produto): Vit. A - 15 mil UI, Vit. D3 - 1,500,000 UI. Vit. E - wm 15000; Vit.B1 - 2.0 g, Vit. B2- 4.0 g Vit. B6 - 3.0 g, Vit. B12 - 0015 g, ácido nicotínico - 25 g, ácido pantoténico - 10 g; 2Vit.K3 - 3.0 g, ácido fólico - 1.0 g. ²Premix Mineral (concentração/kg de produto): Mn - 60 g, Fe - 80 g, Zn - 50 g, Cu - 10 g, Co - 2 g, I - 1 g e Se - 250 mg.; DC = dieta controle com uso normal de metionina, lisina e treonina; BetTop = controle com betaína on top; BetTop+Col = controle com betaína ontop e colina; BetRef = controle com betaína reformulada com 100% da valorização da matriz; BetRef +Col = controle com betaína reformulada com 100% da valorização da matriz e colina; BetRef5 = controle com betaína reformulada com 5% a mais de valorização da matriz; BetRef5 +Col = controle com betaína reformulada com 5% a mais de valorização da matriz e colina. Composição: Inerte = areia lavada.

Fonte: Autores.

A ração e a água foram fornecidas *ad libitum*. O tratamento controle atendem as recomendações das aves na fase, sendo a Dieta Controle (DC). Os tratamentos com Betaína, tiveram dois modos de uso, o OnTop e Reformulada. A betaína OnTop foi suplementada em 20% de metionina digestível da dieta controle (80% oriundo da DL-Metionina, 20% oriundo da Betaína). Nas demais dietas com uso da betaína 'Reformulada', o enriquecimento

nutricional da matriz do produto ocorreu em dois níveis, 100% e com valorização extra de 5% (105%). A colina entrou nas dietas na dose fixa de 0,07%.

Para melhor identificação ao longo do trabalho, os tratamentos tiveram uma nomenclatura direta com base na sua característica. A dieta controle, foi DC. As dietas com Betaína, tinham, “Bet”. As dietas com modo de uso OnTop, tinham “Top”. As dietas com modo de uso Reformulada, tinham “Ref”. As dietas com valorização da matriz nutricional em 5%, tinham “5”. E ainda, as dietas com Colina tinham, “+ Col”. Logo, os tratamentos 1 (DC), 2 (BetTop), 3 (BetTop+Col), 4 (BetRef), 5 (BetRef+Col), 6 (BetRef5), e 7 (BetRef5+Col).

O experimento foi organizado em sete períodos de 15 dias cada, de modo a aumentar o número de avaliações de um modo geral. As características de qualidade dos ovos foram realizadas nos três últimos dias de produção de cada ciclo, totalizando 21 dias de coleta de dados para cada tratamento.

As variáveis avaliadas para desempenho e qualidade do ovo foram: consumo de ração (g/ave/dia), produção de ovo (%), peso do ovo (g), a massa do ovo (g/ave/dia), conversão por massa (kg/kg) e por dúzia de ovos (kg/dz), e de qualidade do ovo: peso absoluto (g) e proporcional (%) de gema, albúmen e casca, bem como a espessura da casca (mm) e gravidade específica (g/cm³).

Ao final do experimento foi realizada a pesagem das aves, selecionando duas aves por parcela para serem abatidas. As aves para o abate foram submetidas a um jejum sólido de seis horas. As aves foram insensibilizadas por eletronarcose, seguido de exsanguinação conforme descrito no protocolo experimental nº 142/2017 aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB).

A análise morfométrica da mucosa intestinal foi realizada ao término do experimento, utilizando duas aves por unidade experimental. Foram coletadas amostras de aproximadamente 1 cm do intestino delgado (duodeno) e do fígado, sendo imediatamente fixados em solução de formol (10%), com avaliação das variáveis altura de vilosidades, profundidade das criptas, relação vilo:cripta e índice de células caliciformes, utilizando a metodologia modificada descrita por Moreira Filho, et al., (2015). Para as leituras das lâminas histológicas, foi utilizado microscópio de luz modelo Olympus BX53 e câmera Zeiss Axion, acoplada com programa de captura de imagens digitais Cellsens Dimension, altura de vilosidade foram visualizadas em microscópio e digitalizadas pelo menos 1 imagem por animal, sendo cada tratamento composto por 8 aves. Para cada imagem foi realizada pelo menos três medições morfométricas para altura de vilosidade e profundidade de cripta com aumento de 50x.

A contagem de células caliciformes presentes nas vilosidades intestinais foi feita após coloração com Periodic Acid Schiff (PAS) + hematoxilina. Para a quantificação de células caliciformes nas vilosidades intestinais (duodeno), foram utilizadas duas aves por tratamento, para cada animal foram realizadas quatro medidas totalizando oito amostras por tratamento. Aleatoriamente foram escolhidas pelo menos 2 imagens de cada animal e mensurado o epitélio intestinal linearmente até perfazer 10.000 micrômetros. Nessas áreas lineares de epitélio mensuradas foram contabilizadas as quantidades de células caliciformes através da coloração de PAS que cora de magenta as células caliciformes. A partir dos resultados foi definida a quantidade de células caliciformes em 1.000 micrômetros para cada tratamento.

O glicogênio hepático foi avaliado apenas por meio da coloração P.A.S. Para mensuração do escore de glicogênio hepático utilizou-se 4 fotomicrografias para cada animal, totalizando um número amostral de 20 (5 animais x 4 fotomicrografias) para cada tratamento. As fotomicrografias foram analisadas atribuindo um escore para o grau de depósito de glicogênio para cada uma, que se cora em magenta pelo PSA. Neste caso, a intensidade da coloração magenta, ou seja, a positividade à coloração é proporcional ao depósito de glicogênio. Os escores foram definidos considerando a intensidade e quantidade da coloração magenta na coloração de PAS, sendo: 0 (ausência de positividade), 1 (pouca positividade), 2 (positividade moderada) e 3 (positividade intensa), seguindo de forma modificada a metodologia do Escore Semi Quantitativo de Ishak (1995). Todas as leituras ocorreram em objetivas de 40x pelo mesmo avaliador.

As análises estatísticas das variáveis avaliadas foram realizadas por meio do programa software Sistema de Análise de Variância SISVAR (Ferreira, 2000), utilizando-se os procedimentos para análise de variância pelo teste F e em seguida aplicado o teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3. Resultados e Discussão

Não foram observados efeito estatísticos ($p > 0,05$) quanto à suplementação da betaína de forma isolada ou em associação com colina para a produção de ovos (PR), consumo de ração (CR), massa de ovo (MO), conversão em massa de ovo (CMO) e conversão em caixa de ovo (CCX30) (Tabela 2).

A suplementação de betaína manteve a produção média de ovos constante, mesmo havendo redução nos valores de metionina na matriz nutricional e inclusão ou não do cloreto de colina nas dietas fornecidas (Tabela 1).

O tratamento BetRef5 + Col apresentou maior peso de ovo quando comparando com a dieta controle, não diferindo dos demais tratamentos. Quanto à forma de uso da betaína, o tratamento controle apresentou peso de ovo inferior ($p=0,01$) aos demais tratamentos, os quais não apresentaram diferenças entre si. Para os tratamentos que tiveram a utilização de colina, demonstraram peso maior comparado aos que não receberam colina nas dietas ($p=0,02$), independente da forma de uso da betaína. Para todas as variáveis não houve interação quanto à forma de uso da betaína associada à colina (Tabela 2).

Tabela 2 - Parâmetros de desempenho zootécnico das aves suplementadas com as diferentes formas de uso e valorização da betaína com ou sem uso de colina período de 104 a 208 dias.

Tratamentos	Variáveis de desempenho						
	PR (%)	CR (g/ave/dia)	PO (g)	MO (g)	CMO (g/g)	CCX30 (g/caixa)	
DC	89,898	25,895	11,264b	23,312	3,880	0,869	
BetTop	92,140	26,596	11,654ab	24,538	3,779	0,867	
BetTop + Col	90,083	26,342	11,705ab	23,801	3,823	0,879	
BetRef	91,454	26,150	11,619ab	23,925	3,857	0,860	
BetRef + Col	89,957	26,538	11,627ab	23,916	3,802	0,889	
BetRef5	90,841	26,457	11,571ab	24,061	3,804	0,876	
BetRef5 + Colina	90,514	26,650	11,914a	24,206	3,785	0,885	
Media geral	90,698	26,375	11,622	23,965	3,819	0,875	
Valor de P	0,811	0,883	0,022	0,878	0,904	0,830	
SEM	1,163	0,488	0,117	0,650	0,071	0,015	
C.V.(%)	3,84	5,54	3,01	8,12	5,54	5,07	
Betaína	DC	89,898	25,895	11,264b	23,312	3,880	0,869
	BetTop	91,11	26,469	11,680a	24,169	3,801	0,873
	BetRef	90,706	26,344	11,623a	23,920	3,830	0,874
	BetRef5	90,678	26,553	11,742a	24,133	3,795	0,880
	Valor de P	0,866	0,725	0,012	0,7169	0,7627	0,9216
	SEM	0,918	0,385	0,092	0,512	0,0557	0,0116
Colina	Sem	91,083	26,274	11,527b	23,959	3,830	0,868
	Com	90,185	26,510	11,749a	23,974	3,803	0,884
	Valor de P	0,3161	0,53	0,016	0,975	0,622	0,170
	SEM	0,627	0,263	0,063	0,350	0,038	0,008
Interação	0,4762	0,9975	0,998	0,639	0,623	0,683	

*Médias seguidas de letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DC = dieta controle com uso normal de metionina, lisina e treonina; BetTop = controle com betaína on top; BetTop + Col = controle com betaína on top e colina; BetRef = controle com betaína reformulada 100%; BetRef + Col = controle com betaína reformulada a 100% e colina; BetRef5 = controle com betaína reformulada 105%; BetRef5 + Col = controle com betaína reformulada a 105% e colina.

*PR= produção de ovos (%); CR= consumo de ração; PO= peso de ovo; MO = massa de ovo; CMO= conversão em massa de ovos; CCX30= conversão em caixa de 30 ovos.

Fonte: Autores.

Teixeira et al., (2008) estudaram níveis de inclusão de colina (0; 200; 400 e 600 ppm) em fatorial com níveis de metionina (0,65 e 0,75%), observaram que somente em níveis mais baixos de metionina na dieta (0,65%) houve a necessidade da suplementação de colina

para codornas japonesas em postura. Por outro lado, Vasconcelos, et al., (2010), estudando os efeitos da suplementação de colina para galinhas poedeiras de 1 a 44 semanas de idade, verificaram que o nível de inclusão de colina na fase de recria influencia a produção de ovos e a porcentagem de casca sem influenciar nos demais parâmetros.

Xing & Jiang (2012), ao avaliarem os efeitos da suplementação dietética de betaína sobre o desempenho em poedeiras leves com 18 semanas de idade, estudando quatro níveis de betaína suplementar de 0,00, 0,04, 0,06, e 0,08 %, observaram que aos 180 dias as aves apresentaram um aumento linear na produção de ovos a partir dos níveis de suplementação de betaína na dieta. Diante disso, a utilização da betaína vem demonstrando bons resultados na produção, podendo proporcionar uma redução dos níveis de inclusão de DL-metionina e substituição total da colina, garantindo o mesmo desempenho.

Existe uma forte correlação entre a concentração de aminoácidos na dieta e o peso dos ovos, sobre tudo os aminoácidos sulfurados, sendo a metionina um importante fator no controle do tamanho do ovo. Alguns estudos evidenciam o aumento do tamanho do folículo quando utilizados níveis mais altos de aminoácidos sulfurados, influenciando diretamente no peso dos ovos (Harms, et al., 1999; Brumano, et al., 2010).

Apesar do consumo de ração das aves não ter apresentado diferença significativa, notou-se, um consumo de ração numericamente menor das aves alimentadas com a dieta controle, onde este grupo apresentou valores de consumo próximos aos recomendados por Rostagno, et al., (2017), em que o consumo de ração para codornas japonesas na fase de postura com peso médio de 190g é de 25.85g/ave/dia. O que nos leva a acreditar que promova uma melhoria na digestibilidade dos nutrientes acelerando o processo de digestão, promovendo consequentemente aumento no consumo, mas melhoria na produção de ovos.

Segundo Novak et al., (2006) a redução no consumo de ração, fato não observado no presente experimento, pode estar relacionada a alteração nos níveis de aminoácidos circulantes no sangue. Em resposta as concentrações plasmáticas do aminoácido, a ave tende a diminuir o consumo, uma vez que suas exigências foram atendidas. Em função da adição de betaína reformulada a 105% e cloreto de colina nas dietas, mostra-se que estes aditivos podem está sendo insuficiente para atingir os níveis deste aminoácido necessário para atender as necessidades nutricionais das aves. Por outro lado, pode estar havendo um fornecimento adequado dos grupos metílicos para desempenhar suas funções necessárias no organismo.

Rezende (2015), avaliando relações crescentes de aminoácidos sulfurados e fontes de betaína em frangos, observou que não houve diferença no consumo de ração para as dietas testadas, corroborando com o presente estudo.

Sakomura et al., (2013), trabalhando com frangos com dietas contendo níveis reduzidos de metionina e colina e inclusão de betaína natural, não encontraram diferença estatística em relação a conversão alimentar das aves e observaram que àquelas alimentadas com dietas contendo níveis reduzidos de metionina e de colina e aves submetidas a suplementação com betaína apresentaram maior consumo de ração, em relação as demais dietas, evidenciando a possibilidade de redução da inclusão de DL-metionina e de cloreto de colina na ração, conseqüentemente dos níveis de aminoácidos sulfurados na presença de suplementação de betaína.

Awad et al., (2014), observaram efeito significativo no desempenho de patos no período de postura entre 24 a 40 semanas de idade em condições de temperaturas elevadas, ao receber dietas suplementadas com betaína, havendo aumento da massa de ovos e melhora na conversão alimentar.

Resultados da conversão por massa de ovo e conversão por caixa de ovo podem ser justificados pelo fato do consumo de ração e massa de ovo também não terem apresentado diferença significativa uma vez que os valores de massa de ovo dependem diretamente destes parâmetros e a conversão por caixa de ovos está diretamente ligada à conversão por massa de ovos. Em estudo realizado por Zou & Lu (2002), utilizando betaína na alimentação de galinhas poedeiras, os autores verificaram que houve melhorias na conversão alimentar, fato explicado pela melhor utilização da proteína dietética, suportada pela redução dos níveis de uréia do sangue, aumento da retenção de nitrogênio e diminuição das exigências de energia metabolizável. Segundo Pereira et. al., (2010), a betaína sintética se mostrou como inibidora da morte celular e redutora do gasto de energia nas células do trato gastrintestinal.

A Tabela 3, mostra que os tratamentos que apresentaram maior percentual de casca do ovo, foram as que receberam a dieta com inclusão de BetRef5 ($p=0,006$), contudo não diferiram dos tratamentos DC, BetTop, BetRef e BetRef + Col. Os ovos das codornas do tratamento BetTop foram os que apresentaram menor peso relativo de casca ($p=0,07$), entretanto não diferiram daquelas do tratamento BetTop + Col. Entretanto as aves que não receberam dietas com a inclusão do cloreto de colina apresentaram maior percentual de casca ($p=0,0002$), quando comparado as aves dos tratamentos que receberam alimentação com este nutriente (Tabela 3).

Tabela 3 - Parâmetros de qualidade interna e externa do ovo das aves suplementadas com as diferentes formas de uso e valorização da betaína com ou sem uso de colina no período de 104 a 208 dias.

Tratamentos	Parâmetros de qualidade interna e externa do ovo						
	Casca (%)	Albúmen (%)	Gema (%)	Espessura casca (mm)	Grav. esp (g/cm ³)	Resistênci a casca (gf)	
DC	8,568ab	60,935	30,330	0,233	1,073	1,197	
BetTop	8,440abc	60,646	30,594	0,234	1,072	1,208	
BetTop+Col	8,282c	60,710	30,374	0,229	1,074	1,155	
BetRef	8,437abc	60,730	30,507	0,239	1,076	1,134	
BetRef+Col	8,398abc	60,156	30,460	0,229	1,072	1,158	
BetRef5	8,622a	60,557	30,347	0,234	1,072	1,182	
BetRef5+Colina	8,292bc	60,223	30,671	0,230	1,072	1,125	
Média geral	8,434	60,565	30,469	0,233	1,073	1,166	
Valor de P	0,006	0,440	0,975	0,084	0,409	0,391	
SEM	0,064	0,273	0,288	0,002	0,002	0,030	
C.V.(%)	2,26	1,35	2,83	3,16	0,47	7,65	
Betaína	DC	8,568a	60,935	30,330	0,233	1,073	1.197
	BetTop	8,361b	60,678	30,484	0,231	1,073	1.181
	BetRef	8,417ab	60,443	30,483	0,234	1,074	1.146
	BetRef5	8,457ab	60,390	30,509	0,232	1,072	1.154
	Valor de P	0,072	0,343	0,963	0,609	0,638	0.412
	SEM	0,050	0,215	0,227	0,002	0,001	0.023
Colina	Sem	8,517a	60,717	30,444	0,235a	1,074	1,180
	Com	8,324b	60,363	30,502	0,230b	1,072	1,146
	Valor de P	0,0002	0,095	0,795	0,0065	0,4047	0.1376
	SEM	0,034	0,147	0,155	0,00132	0,0009	0.01604
Interação	0,9975	0,9975	0,412	0,9975	0,1849	0,9975	

*Médias seguidas de letras distintas nas colunas diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DC = dieta controle com uso normal de metionina, lisina e treonina; BetTop = controle com betaína on top; BetTop + Col = controle com betaína on top e colina; BetRef = controle com betaína reformulada 100%; BetRef + Col = controle com betaína reformulada a 100% e colina; BetRef5 = controle com betaína reformulada 105%; BetRef5 + Col = controle com betaína reformulada a 105% e colina.

Para as variáveis, percentual de albúmen (p= 0,44) e gema (p=0,97) não houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos, independente da forma de uso da betaína. Para estas variáveis não houve interação quanto à forma de uso da betaína ou associação com colina.

As variáveis, espessura de casca, resistência de casca e gravidade específica não apresentaram diferença significativa (p<0,05) entre os tratamentos durante o período experimental. Quanto a valorização da betaína também não foi observada diferença significativa. As aves não apresentaram diferença significativa para estas variáveis quanto à

valorização da betaína ($p=0,72$), ($p=0,61$) e ($p=0,41$), respectivamente. As aves que não receberam colina nas dietas apresentaram uma maior espessura de casca ($p=0,0065$). Para estas variáveis não observou interação quanto à forma do uso da betaína associada à colina.

Os resultados obtidos para os constituintes albúmen e gema do ovo demonstraram que a betaína tende a atuar de forma eficaz nos tratamentos com redução de metionina, pois no presente estudo, os tratamentos com redução de metionina e inclusão da betaína foram mantidos em uma proporção similar ao observado no tratamento controle. De acordo com Novak, et al., (2004), enquanto as lipoproteínas que constituem a gema são continuamente sintetizadas no fígado e posteriormente transportadas ao ovário, a maior parte da síntese das proteínas do albúmen ocorre no oviduto, mais precisamente no magno.

Segundo Muramatsu, et al., (1991) a taxa de síntese proteica nesta porção do oviduto é muito superior em relação às demais regiões, o que demanda adequado aporte de aminoácidos e proteína para formação do albúmen em um curto período de tempo. Neste caso, mudanças na concentração de aminoácido no sangue em decorrência de dietas com reduzido teor de metionina pode ocasionar efeitos na taxa de síntese no magno, podendo interferir de forma negativa no peso e qualidade do albúmen. Sendo assim, a redução de metionina não alterou a síntese proteica na formação dos componentes do ovo.

Verificou-se que ao utilizar cloreto de colina houve um menor valor para percentual de casca, podendo indicar que para este parâmetro não há necessidade de suplementação associada com cloreto de colina, sendo suficiente o uso da betaína para substituição da DL-metionina nas dietas para codornas japonesas em postura. Provavelmente esse efeito pode ter ocorrido em virtude da solubilidade das membranas secretoras na síntese do ovo, haja vista que, de acordo com King' Ori, (2011), a espessura da casca do ovo pode ser influenciada por muitos fatores, incluindo os minerais tais como o cálcio, magnésio e fósforo, como os principais constituintes inorgânicos da casca de ovo.

A não ocorrência de influência estatística dos tratamentos sobre a espessura de casca, resistência de casca e gravidade específica, demonstra que a redução de DL-metionina nas dietas com a inclusão da betaína mantém a qualidade externa dos ovos.

Os valores médios observados para as variáveis morfológicas do duodeno, bioquímica do glicogênio hepático e células caliciformes das codornas, encontram-se apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Parâmetros histológicos das aves suplementadas com as diferentes formas de uso e valorização da betaína com ou sem uso de cloreto de colina aos 208 dias de idade.

Tratamentos	Parâmetros					
	Profundidade de Cripta	Altura de Vilos	Relação Vilo/Cripta	Glicogênio Hepático	Células Caliciformes	
DC	91,893abc	739,257ab	0,128a	1,273	44e	
BetTop	83,713abc	776,208a	0,109ab	1,333	44e	
BetTop + Col	86,710abc	728,282ab	0,123ab	1,121	51c	
BetRef	77,867bc	819,998a	0,097b	1,152	51cd	
BetRef + Col	95,491ab	777,002a	0,126ab	1,152	61b	
BetRef5	102,622a	741,222ab	0,138a	1,242	50d	
BetRef5 + Colina	73,741c	589,894b	0,130a	1,121	65a	
Média geral	87,434	738,838	0,122	1,199	52	
Valor de P	0,001	0,001	0,002	0,1875	000	
SEM	4,519	34,638	0,007	0,069	0,231	
C.V.(%)	14,58	13,23	16,20	32,98	1,25	
Betaína	DC	91,893	739,257ab	0,128ab	1,273	44d
	OnTop	85,211	752,245ab	0,116ab	1,227	47c
	Refor	86,679	798,500a	0,112b	1,182	56b
	Refor5	88,182	665,558b	0,134a	1,121	58a
	Valor de P				0,402	<0,001000
	SEM	0,6673	0,0041	0,0111		
	SEM	3,564	27,322	0,0055	0,058	0,183
Colina	Sem	89,024	769,171a	0,118a	1,253	47b
	Com	85,314	698,393b	0,126ab	1,159	59a
	Valor de P				0,077	<0,001000
	SEM	0,287	0,010	0,120		
	SEM	2,435	18,665	0,004	0,037	0,125
Interação	<0,001	0,243	0,998	<0,001	0,9975	

*Médias seguidas de mesma letra nas colunas não se diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DC = dieta controle com uso normal de metionina, lisina e treonina; BetTop = controle com betaína on top; BetTop + Col = controle com betaína on top e colina; BetRef = controle com betaína reformulada 100%; BetRef + Col = controle com betaína reformulada a 100% e colina; BetRef5 = controle com betaína reformulada 105%; BetRef5 + Col = controle com betaína reformulada a 105% e colina.

Para a profundidade de cripta ($p=0,001$), as aves do tratamento BetRef5 foram as que apresentaram maior profundidade, contudo não diferiram dos tratamentos DC, e BetTop BetTop + Col e BetRef + Col. Por outro lado o tratamento BetRef5 + Col obteve menor valor, que por sua vez, também não apresentou diferenças entre as médias dos tratamentos DC, BetTop e BetTop + Col e BetRef. Não houve diferença significativa para valorização de uso da betaína ($p=0,007$). As médias não diferiram entre si em relação às formas de uso da betaína.

Quanto a interação da valorização da betaína com o uso da colina, as aves que receberam a dieta ReFor com o uso da colina apresentaram uma maior profundidade de cripta

($p=0,005$), porém não houve diferença das aves que receberam o tratamento BetTop. Enquanto que, as aves que receberam o tratamento BetRef5 apresentaram menor valor, que por sua vez, também não diferiram da média das codornas que receberam a dieta BetTop. Já as aves que receberam as dietas sem o uso de colina, o tratamento BetRef5 apresentou um maior valor ($p=0,002$), no entanto não apresentou diferença ao tratamento DC. O tratamento Refor apresentou menor profundidade de cripta, no entanto, não se diferiu dos tratamentos DC e BetTop.

A altura do vilo sofreu alterações em decorrência dos tratamentos ($p=0,001$). As médias das aves dos tratamentos BetTop, BetRef e BetRef + Col não foram diferentes entre si, estando intermediários os tratamentos DC, BetTop + Col e BetRef105, no entanto, as codornas alimentadas com a dieta contendo BetRef + Col apresentaram altura de vilo inferior aos demais tratamentos, enquanto que, a forma de uso BetReF5 apresentou menor altura de vilo, que por sua vez, também não diferiu das formas de uso DC e BetTop. Nas dietas com a suplementação da colina houve diferença significativa ($p<0,01$), apresentando altura de vilo superior.

As codornas alimentadas com a ração contendo BetRef5 apresentaram melhor relação vilo:cripta ($p=0,002$) comparado com o tratamento BetRef, porém não foram diferentes dos tratamentos DC e BetRef5+Col. As aves do tratamento BetRef foram as que apresentaram menor valor,mas não diferiram das codornas dos tratamentos BetTop, BetTop + Col, BetRef + Col e, estes por sua vez, também não diferiram das aves dos tratamentos DC e BetRef5 + Col.

Na valorização do uso da betaína, a forma apresentada no tratamento BetRef respondeu com maior altura de vilo ($p<0,004$), no entanto, não diferiu dos tratamentos que utilizaram as formas de uso DC e BetTop. Quando utilizou a forma BetRef5 esta variável apresentou resultado superior ($p<0,01$), porém não diferiu das formas DC e BetTop, que por outro lado, não diferiram da forma ReFor que apresentou menor relação vilo:cripta. Entretanto os tratamentos sem o uso de colina apresentaram maior resposta ($p<0,004$) em relação às dietas que foram fornecidas com colina.

Criptas com maior profundidade indicam uma eminente atividade proliferativa celular, para garantir adequada taxa de renovação dos vilos e criptas (Murugesan, 2013). Entretanto, criptas mais profundas demandam maior tempo de migração e diferenciação da célula encontrada na mucosa intestinal, permitindo uma quantidade de enterócitos maduros no ápice das vilosidades (Gomide Junior, et al., 2004), implicando no mecanismo de absorção.

Esta maior profundidade pode ser ocasionada por um efeito trófico de um ingrediente ou por alguma lesão da mucosa (Serpa, 2016).

A presente pesquisa demonstrou que o uso apenas da betaína a 105% na dieta com redução da metionina apresentou profundidade de cripta estatisticamente semelhante ao da dieta basal, não interferindo no desenvolvimento das vilosidades. O uso da betaína, sob as formas de aplicação associado com a colina, diminuiu a profundidade de cripta, especialmente quando utilizado em modo reformulada 100%, e reformulado a 105% com inclusão de colina. Assim podemos inferir que esta variável foi influenciada pelo uso da betaína na presença de colina, indicando mediante resultados o uso da betaína sem associação da colina.

Neste experimento, as codornas japonesas alimentadas com o tratamento BetRef5+Col, responderam de forma desfavorável, mantendo uma diminuição na altura dos vilos das aves estudadas. De acordo com Kettunen, et al., (2001), a betaína tem a capacidade de estabilizar a estrutura da mucosa intestinal, o que manteria um melhor desenvolvimento de células funcionais na mucosa intestinal e conseqüentemente maior alongamento das suas vilosidades (Furlan, et al., 2004), o que indicaria a diminuição da metionina com a inclusão da betaína reformulada a 105% na alimentação de codornas japonesas na fase de postura, como observado no presente estudo.

As codornas que receberam dieta com betaína reformulada a 100% apresentaram menor relação entre altura de vilo e profundidade de cripta, isto pode ser explicado devido a um possível desequilíbrio no turnover celular, interferindo na sua digestibilidade e na absorção dos nutrientes. Isso indica que para esta variável, a betaína reformulada a 100% não foi suficiente para manter a relação altura de vilo x profundidade de criptas o mais adequado possível.

Não houve diferença estatística entre os tratamentos estudados para porcentagem de glicogênio nas codornas de postura. Estes resultados demonstraram que o uso da betaína não afetou o metabolismo hepático das aves no período de postura. Para glicogênio hepático, não houve diferença entre os tratamentos independente da presença da colina. As diferentes formas do uso da betaína independentemente de sua associação ou não com a colina, por não afetar a produção do glicogênio hepático, permite afirmar que age como poupadora de metionina, podendo ser incluída na dieta das codornas japonesas em postura.

As codornas que receberam o tratamento BetRef5 + Colina apresentaram maior número de células caliciformes, quando comparados com os demais tratamentos, enquanto que as aves que alimentadas com as dietas controle e BetTop tiveram número reduzido de células caliciformes. Portanto, a dieta reformulada a 105% pode estar menos suscetível a

fatores patógenos, uma vez que quanto maior número de células pode ocorrer uma maior secreção de lipoproteínas promovendo um grupo de proteínas defensivas do sistema gastrointestinal.

O tratamento BetRef proporcionaram uma maior profundidade de cripta ($p=0,005$) nas aves quando foi desdobrado com o uso da colina. Enquanto, na ausência de colina o tratamento que demonstrou maior profundidade de cripta foi o BetRef5 ($p=0,002$), conforme a Tabela 5.

Tabela 5 - Desdobramento da forma de betaína dentro do uso de colina sobre Profundidade de cripta e Glicogênio hepático das aves suplementadas aos 208 dias de idade.

Desdobramento de forma de uso da betaína dentro da presença de colina			
	Com colina	Sem colina	
Profundidade de Cripta	Sem	---	91,893ab
	OnTop	86,710ab	83,713b
	Refor	95,491a	77,867b
	Refor5	73,742b	102,623a
	Valor de P	0,005	0,002
	SEM	4,466	4,466
Glicogênio Hepático	DC	---	1,273
	OnTop	1,121	1,333
	Refor	1,197	1,152
	Refor5	1,121	---
	Valor de P	0,535	0,283
	SEM	0,064	0,070

*Médias seguidas de mesma letra nas colunas não se diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. DC = dieta controle com uso normal de metionina, lisina e treonina; BetTop = controle com betaína on top; BetTop+Col = controle com betaína on top e colina; BetRef100 = controle com betaína reformulada 100%; BetRef100 +Col = controle com betaína reformulada a 100% e colina; BetRef105 = controle com betaína reformulada 105%; BetRef105 +Col = controle com betaína reformulada a 105% e colina.

Devido à participação nas reações de metilação no metabolismo hepático da gordura, a inclusão de betaína na dieta pode prevenir a esteatose, foi observado que a betaína se mostrou eficiente doadora do grupo metil, atuação crucial para o ciclo de transmetilação podendo, assim, poupar o uso da metionina e colina, disponibilizando-as para exercer outras funções vitais no organismo, pois a betaína age como fator lipotrófico, sendo capaz de reduzir a gordura do fígado além de possuir aptidão em auxiliar o fígado na queima de gordura e diminuição da síndrome do fígado gorduroso por meio de doação de grupos metil (Garcia Neto, 2004; Domenici, et al., 2011). Resultado semelhante foi obtido por Sun et al., (2008), que constataram que o uso de 105% da suplementação da betaína natural em substituição a

metionina, melhorou o rendimento da carne de peito de frango e reduziu o teor de gordura no fígado.

Ademais, a betaína associada à colina se mostrou eficiente na produção de células caliciformes, o que pode favorecer a proteção do organismo animal. As células caliciformes por serem altamente polarizadas, e apresentam a membrana apical voltada para o lúmen intestinal, que acabam promovendo maior secreção de defensinas (Dibner & Richards, 2004).

4. Considerações Finais

A betaína reformulada, enriquecida em mais 5% de sua matriz nutricional, substitui o uso de cloreto de colina nas rações de codornas japonesas em postura de 104 a 208 dias de idade. Sugere-se estudos futuros com a dose de uso ideal em outras espécies e em quais fases de desenvolvimento do animal, em virtude, especialmente, do possível impacto causado no metabolismo hepático e, por conseguinte, no animal como um todo.

Referências

Awad, AL, Fahim, HN, Ibrahim, AF & Beshara, MM. (2014). Effect of dietary betaine supplementation on productive and reproductive performance of Domyati duck under summer conditions. *Egypt Poultry Science*. 34(2), 453-474.

Baker, DH, Fernandez, SR, Webel, DM. & Parsons, CM. (1996). Sulfur amino acid requirement and cystine replacement value of broiler chicks during the period three to six weeks post-hatching. *Poultry Science*, 75, 737-742.

Barros Moreira Filho, AL, Oliveira, CJB, Oliveira, HB, Campos, DB, Guerra, RR, Costa, F. GP & Givisiez, PEN. (2015). High incubation temperature and threonine dietary level improve ileum response against post-hatch *Salmonella Enteritidis* inoculation in broiler chicks. *PloS One*, 10(7), e0131474.

Brumano, G. (2008). Níveis de metionina + cistina digestíveis em rações para poedeiras leves nos períodos de 24 a 40 e de 42 a 58 semanas de idade. *Tese (Doutorado)*. Universidade Federal de Viçosa, UFV. Viçosa-MG. 2008, 103 pp

Brumano, G, Gomes, PC, Donzele, JL, Rostagno, HS, Rocha, TC & Almeida, RL. (2010). Níveis de metionina + cistina digestível para poedeiras leves no período de 24 a 40 semanas de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39, 1228-1236.

D'Mello, JPF. (2003). *Amino acid in farm animal nutrition*. 2ª ed. Cabi. Wallingford. 440 p.
Dibner, JJ & Richards, JD. (2004). The digestive system: challenges and opportunities. *The Journal of Applied Poultry Research*. 13, 86-93.

Domenici, FA, Brochado, MJF, Martinelli, ALC, Rocha, MM, Cunha, SF, Elias Jr, J, Zucoloto, S, Meirelles, MSS & Vanucchi, H. (2011). Suplementação de betaína em pacientes com nash: diminuição da esteatose hepática. *Journal of Brazilian Society Food Nutrition*. 36, 1-354.

Fallah, F, Ebrahimnezhad, Y, Maheri-Sis, N & Ghasemi-Sadabadi, M. (2016). The effect of different levels of diet total volatile nitrogen on performance, carcass characteristics and meat total volatile nitrogen in broiler chickens. *Archivos of Animal Breeding*, 59, 191-199. doi: 10.5194/aab-59-191-2016.

Farina, G, Kessler, AM, Ebling, PD, Marx, FR, César, R & Ribeiro, AML. (2017). Performance of broilers fed different dietary choline sources and levels. *Ciência Animal Brasileira*, 18, e37633. doi: 10.1590/1809-6891v18e-37633.

Furlan, RL, Macari, M & Luquetti, BC. (2004). *Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva*. In: Simpósio Técnico de Incubação, Matrizes de Corte e Nutrição, 5, Balneário Camboriú, Santa Catarina. Anais... Balneário Camboriú. p. 6-28.

Garcia Neto, M. (2004). *Avaliação da biodisponibilidade relativa entre betaína e metionina para frangos de corte*. 102 f. 2004. Livre Docência – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista. Araçatuba.

Gomide Jr MH, Sterzo, V, Macari, M & Boleli, IC. (2004). Use of scanning electron microscopy for the evaluation of intestinal epithelium integrity. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 3, 1500-1505.

Hoyles, L, Jiménez-Pranteda, M, Chilloux, J, Brial, F, Myridakis, A, Aranas, T, Magnan, C, Gibson, GR, Sanderson, JD, Nicholson, JK, Gauguier, D, McCartney, A, Igwe IR, Okonkwo, CJ, Uzoukwu, UG & Onyenegecha, CO. (2015). The Effect of Choline Chloride on the Performance of Broiler Chickens. *Annual Research & Review in Biology*, 8, 1-8.

Ishak, K, Baptista, A, Bianchi, L, Callea, F, De Groote, J, Gudat, F & Phillips, MJ. (1995). Histological grading and staging of chronic hepatitis. *Journal of Hepatology*, 22(6), 696-699.

Kettunen, H, Tiihonen, K, Peuranen, S, Saarinen, MT & Remus, JC. (2001). Dietary betaine accumulates in the liver and intestinal tissue and stabilizes the intestinal epithelial structure in healthy and coccidia-infected broiler chicks. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 130(4), 759-769.

King' Ori, AM. (2011). A review of the uses of poultry eggshells and shell membranes. *International Journal of Poultry Science*, 10(11), p. 908-912.

Landfald, B, Valeur, J, Berstad, A & Raa, J. (2017). Microbial trimethylamine-N-oxide as a disease marker: something fishy? *Microbial Ecology in Health and Disease*, 28, e1327309. doi: 10.1080/16512235.2017.1327309.

Metzler-Zebeli, BU, Eklund, M & Mosenthin, R. (2009). Impact of osmoregulatory and methyl donor functions of betaine on intestinal health and performance in poultry. *World's Poultry Science Journal*. 65, 419-441.

Muramatsu, T, Hiramoto, K & Okumura, J. (1991). Changes in ovalbumin and protein synthesis in vivo in the magnum of laying hens during the egg formation cycle. *Compendium Biochemistry and Physiology B*, 99, 141-146.

Murugesan, GR. (2013). *Characterization of the effects of intestinal physiology modified by exogenous enzymes and direct-fed microbial on intestinal integrity, energy metabolism, body composition and performance of laying hens and broiler chickens*. 177 f. Tese (Doutorado em Nutritional Sciences) - Iowa State University, Ames.

- Novak, C, Yakout, H & Scheideler, S. (2004). The combined effects of dietary lysine and total sulfur amino acid level on egg production parameters and egg components in Dekalb delta laying hens. *Poultry Science*. 83, 977-984.
- Novak, C, Yakout, HM & Scheideler, SE. (2006). The effect of dietary protein level and total sulfur amino acid:lysine ratio on egg production parameters and egg yield in Hy- Line W-98 Hens. *Poultry Science*. 85, 2195-2206.
- Panda, AK, Rao, SV, Raju, MVLN & Sunder, GS. (2009). Effect of butyric acid on performance, gastrointestinal tract health and carcass characteristics in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 22(7), 1026-1031.
- Paniz, C, Grotto, D, Schmitt, GC, Valentini, J, Schott, KL, Pomblum, VJ & Garcia, SC. (2005). Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. *Jornal Brasileiro de Patologia*, 41(5), 323-334.
- Park, BS & Park, SO. (2017). Effects of feeding time with betaine diet on growth performance, blood markers, and short chain fatty acids in meat ducks exposed to heat stress. *Livestock Science*, 199, 31–36.
- Pereira, PW Z, Menten, JFM, Racanicci, AMC, Traldi, AB, Silva, CS & Rizzo, PV. (2010). Avaliação de complexo enzimático e betaína natural em rações para frangos de corte criados em aviário comercial. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(10), 2230-2236.
- Pereira, AS, Shitsuka, DM, Parreira, FJ & Shitsuka, R. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.
- Pompeu, MA, Lara, LJC, Baião, NC, Ecco, R, Cançado, SV, Rocha, JSR, Machado, ALC & Vasconcelos, RJC. (2011). Suplementação de colina em dietas para frangos de corte machos na fase inicial de criação. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63, 1446–1452. doi: 10.1590/S0102-09352011000600023.

Rezende, PM. (2015). *Relações de aminoácidos sulfurados: lisina digestíveis e diferentes fontes de betaína nas dietas pré-inicial e inicial de frangos*. 74 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

Rostagno, HSL, Albino, FT, Hannas, MI, Donzele, JL, Sakomura, NK & Costa, FGP. (2017). *Brazilian Tables for Poultry and Swine: Composition of Foods and Nutritional Requirements*. 4th ed. Viçosa: Federal University of Viçosa, Department of Animal Science.

Sakomura NK, Barbosa NAA, Silva EP, Longo FA, Kawauchi IM & Fernandes JBK. (2013). Efeito da suplementação de betaína em dietas de frangos de corte em condições de termoneutralidade. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 8(2), 336-341.

Selvam, R, Saravanakumar, M, Suresh, S, Chandrasekeran, CV & D'Souza, P. (2018). Evaluation of polyherbal formulation and synthetic choline chloride on choline deficiency model in broilers: implications on zootechnical parameters, serum biochemistry and liver histopathology. *Asian-Austral Journal of Animal Science*, 31 (11), 1795-1806.

Serpa, PG. (2016). *Ácido butírico e betaína na alimentação de frangos de corte*. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Programa de Pós – Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual Paulista. Botucatu-SP.

Sun, H, Yang, WR, Yang, ZB, Wang, Y, Ziang, SZ & Zhang, GG. (2008). Effects of betaine supplementation to methionine deficient diet on growth performance and carcass characteristics of broilers. *American Journal of Animal Veterinary Science*, 78-84.

Teixeira, LV, Queiroz, LSB & Garcia Jr, AAP. (2008). Relação entre níveis de metionina e colina sobre o desempenho de codornas japonesas em postura. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*, 45, Lavras. Anais... Sociedade Brasileira de Zootecnia.

Vasconcelos, RJC, Lara, LJC & Baião, NC. (2010). Efeitos dos níveis de suplementação de colina para poedeiras comerciais de uma a 44 semanas de idade. In: *VIII Congresso APA produção e comercialização de ovos*, São Pedro, Anais.

Xing, J & Jiang, Y. (2012). Effect of dietary betaine supplementation on mrna level of lipogenesis genes and on promoter cpg methylation of fatty acid synthase (fas) gene in laying hens. *African Journal of Biotechnology*, 11, 6633-6640.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Elizângela Bonfim de Oliveira – 10%

Anilma Sampaio Cardoso – 20%

Ricardo Romão Guerra – 15%

Danilo Vargas Gonçalves Vieira – 10%

Fernando Guilherme Perazzo Costa – 15%

Miriam Lima Fernandes – 05%

Iva Carla de Barros Ayres – 05%

Daniel Sales do Nascimento – 05%

Matheus Ramalho de Lima – 15%