**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Modelos matemáticos para predição das exigências nutricionais da
colina para frangos de corte**

Michele Bernardino de Lima

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração: Ciência
Animal e Pastagens

**Piracicaba
2012**

Michele Bernardino de Lima
Zootecnista

**Modelos matemáticos para predição das exigências nutricionais da colina para
frangos de corte**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ FERNANDO MACHADO MENTEN**

**Dissertação apresentada para obtenção do título em
Mestre em Ciências. Área de concentração;Ciência
Animal e Pastagens**

**Piracicaba
2012**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Lima, Michele Bernardino de

Modelos matemáticos para predição das exigências nutricionais da colina para frangos de corte / Michele Bernardino de Lima.- - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2012.

75 p: il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Colina 2. Dieta animal 3. Exigência nutricional 4. Frangos de corte
5. Metionina 6. Modelos matemáticos I. Título

CDD 631.513
L732m

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Ao meu glorioso Deus, por sempre iluminar meus caminhos e sempre estar comigo em todos os momentos de minha vida.

Dedico

*A meus pais Mariluce Bernardino de Lima e Júlio Alves de Lima pelo amor incondicional, carinho e dedicação.
Ao meu irmãozinho/filho Jefferson Müller Bernardino de Lima, a razão do meu viver.*

Amo vocês!

Ofereço

Eu Respiro Você

Jorge e Mateus

*O tempo para, não sei porquê
Quando estou perto de você
Um sentimento que me faz bem
Ao seu lado, não preciso de ninguém*

*Quando eu te chamo, você responde
E eu me perco se você se esconde
Se tenho forças, são todas suas
Eu sem você sou como um céu sem lua*

*Mas é tão bom o que estou sentindo,
Tudo é tão bom te vendo sorrindo
Preciso de você, te fazer feliz me faz viver*

*Sigo vivendo você
Vivo pra poder te ter
Meu ar, tô precisando respirar,
Mas sem você não consigo*

*Vivo pensando em você, é impossível te esquecer
Meu bem, eu sem você não sou ninguém
Te quero pra sempre comigo.*

*Ofereço ao presente que Deus me deu
Edney.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus lindo que sempre está comigo nos momentos que mais necessito.

À minha linda família Mariluce, Júlio e Jefferson. A melhor família do mundo que sempre me proporcionou uma ótima educação e fizeram de mim a pessoa que sou hoje.

À minha segunda família: Dona Edneide, Sr. Eliano, Edvânia e Eliane pelos ótimos momentos de convivência.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo pela oportunidade de cursar o mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa.

Ao professor e orientador José Fernando Machado Menten pelos ensinamentos, paciência e por sempre estar disposto a ensinar. Muito obrigada!

Ao professor Luiz Fernando Teixeira Albino pela doação dos aminoácidos e por sempre ser tão prestativo comigo.

Ao professor Dr. Carlos Tadeu dos Santos Dias pelos ensinamentos, sugestões, auxílio nas análises estatísticas e participação na banca.

À Professora Nilva Kazue Sakomura pelas sugestões e participação na banca.

Ao Prof. Dr. Valdomiro Shigueru Miyada e ao Prof. Dr. José Eurico Possebon Cyrino, pelos ensinamentos.

À IMCOPA, Corn Products e Agrocerees Multimix pela doação de alguns ingredientes para formulação das dietas experimentais.

À Edney Pereira da Silva pelo auxílio nas análises estatísticas, paciência, ensinamentos, convivência, amizade, amor, apoio, carinho e companheirismo.

À minha amigona Tarciane Tomé, amiga que sempre esteve comigo em todos os momentos desde que cheguei à Piracicaba. Mesmo distante se faz muito presente.

Ao meu amiguinho Valdson Silva, o menino da “CAPES”, meu querido amigo que sempre esteve comigo nos momentos que mais precisei. Obrigada por sempre poder contar com você.

À Tayara Soares pelos momentos de alegria, descontração e amizade verdadeira.

À minha irmãzinha Jacqueline (Marmota) pela excelente amizade e por cuidar de mim quando estive doente. Você é realmente uma amigona. Adoro você!

À Milla Albuquerque (uma das Super poderosas) pela amizade e pelos momentos de alegria. Minha amiguinha que também adoro.

À minha mais nova irmãzinha Rafaela Pereira, pela convivência, amizade, momentos de alegria e descontração. Sentirei muito a sua falta. Você é muito especial para mim.

À minha amiguinha e companheira de sala Gizinha pelos momentos de alegria. Adorei ter te conhecido. Você é uma pessoa muito especial. Obrigada pelas longas conversas.

Às meninas da primeira república: Pâmela e Fabiane pela convivência. Obrigada pelos ensinamentos e pela amizade.

Às meninas da segunda república Aline, Paulinha (muito obrigada pela ajuda), Rafinha e a agregada Janita, meninas de ouro. Adorei muito ter conhecido vocês.

À turminha 2010.2: Gustavo Nápoles, Pâmela Rizzo, Débora Bastos, Milla Albuquerque, Danilo Perina, Leonardo Freitas e Valdson José. Foi ótimo conviver com vocês nesses dois anos.

À Jeane Avelar pela amizade e pelo auxílio na condução do experimento.

A todos os professores do Programa Ciência Animal e Pastagens pelos ensinamentos durante todo o curso.

À Lilian Techio pela ajuda concedida assim que cheguei a Piracicaba e a meu amigo Fábio Dossi pelas longas conversas.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia: Dona Célia, Bruna, Henrique e Nalda pela amizade durante o curso.

A todos os alunos do Departamento de Não Ruminantes: Carla Andrade, Cristiano Bortoluzzi, Danilo Perina, Gislaine Romano, Leonardo Freitas, Kelen Zavarize, Maicon Sbardella, Rafaela Pereira e Vivian Almeida pela convivência e pelos momentos de alegria.

Aos funcionários do Setor de Avicultura e Suinocultura: Carlão, Filó, Chico, Gilberto, Augusto, Sr. Antônio, Paulinho, Gaúcho, Ednésio e Alexandre pela ajuda na condução dos experimentos.

Enfim, a todos que contribuíram para realização deste trabalho.

*Se você não puder ser um pinheiro no topo da colina,
Seja um arbusto no vale - mas seja
O melhor arbusto à margem do regato:
Seja um ramo, se não puder ser uma árvore.
Se não puder ser um ramo, seja um pouco de relva,
E dê alegria a algum caminho:
Se não puder ser almiscar, seja então, apenas uma tília - Mas a tília mais
viva do lago!
Não podemos ser todos capitães; temos de ser tripulação.
Há alguma coisa para todos nós aqui.
Há grandes obras e outras menores, a realizar,
E é a próxima a tarefa que devemos empreender.
Se você não puder ser uma estrada, seja apenas uma senda,
Se não puder ser Sol, seja uma estrela;
Não é pelo tamanho que terá êxito ou fracasso -
Mas seja o melhor do que quer que você seja!*

(Douglas Malloch, 1877-1938)

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE TABELAS	17
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	19
LISTA DE SÍMBOLOS.....	21
1 INTRODUÇÃO	23
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	25
2.1 Histórico da colina	25
2.2 Importância da colina na célula animal	25
2.3 Problemas relacionados com a deficiência de colina em aves.....	26
2.4 Utilização da colina em dietas para frangos de corte	27
2.5 Método dose-resposta.....	28
2.6 Resposta animal à adição de um nutriente limitante à ração	29
2.7 Metionina e colina como doadores de radical metil.....	30
2.8 Colina e betaína nas dietas de frangos de corte	32
2.9 Modelos matemáticos para prever as exigências nutricionais das aves.....	32
2.9.1 Modelos matemáticos.....	33
2.9.1.1 Modelos dinâmicos.....	34
2.9.1.2 Modelos empíricos	34
2.9.1.3 Modelos mecanicistas	34
2.9.1.4 Modelos determinísticos.....	35
2.9.1.5 Modelos estocásticos	35
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
3.1 Determinação da colina dos ingredientes.....	37
3.2 Formulações das rações experimentais e níveis experimentais	37
3.3 Experimento de crescimento para determinar as exigências nutricionais da colina para frangos de corte	42
3.3.1 Animais, alojamento e delineamento experimental	42
3.3.2 Variáveis de desempenho zootécnico avaliadas.....	43
3.3.3 Análises estatísticas.....	43
3.3.4 Modelando as respostas das aves por diferentes funções matemáticas	44

3.3.5 Avaliação e seleção dos modelos.....	46
3.3.6 Análise de paralelismo.....	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4.1 Respostas das aves à ingestão de colina com nível normal e reduzido de metionina digestível na dieta	47
4.2 Modelando as respostas de frangos de corte por diferentes funções matemáticas	50
4.3 Determinação das exigências nutricionais da colina para os períodos de 1 a 7, 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade.....	59
4.4 Efeito da metionina sobre exigência de colina total	63
4.5 Determinação de gordura dos fígados das aves do Ensaio 1.....	66
REFERÊNCIAS	69

RESUMO

Modelos matemáticos para predição das exigências nutricionais da colina para frangos de corte

A colina é um nutriente essencial nas dietas de frangos de corte. Os valores de exigências nutricionais são variáveis e foram estabelecidos há muitos anos. Assim, objetivou-se com este trabalho reavaliar as respostas de frangos de corte de alto potencial genético de 1 a 7, 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade como também modelar as respostas por diferentes funções matemáticas. Foram conduzidos dois experimentos sob dois níveis de metionina na dieta, tendo como base o método dose-resposta. Para os ensaios, foram utilizados 2.160 pintos de corte machos da linhagem Cobb 500 (1.080 em cada experimento), distribuídos em um delineamento inteiramente aleatorizado, com seis tratamentos, seis repetições e 30 aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram em rações com níveis de 390, 715, 1.040, 1.365, 1.690 e 2.015 mg/kg de colina. As rações experimentais foram formuladas utilizando-se a técnica da suplementação. Foi formulada uma ração basal à base de milho, farelo de soja, concentrado proteico de soja, açúcar e amido contendo 390 mg/kg de colina total e 0,596% de metionina digestível. O cloreto de colina (62,5%) comercial foi suplementado para obter os demais níveis. O segundo experimento consistiu nos mesmos tratamentos do primeiro, porém com atendimento de 0,440% da metionina digestível. As variáveis mensuradas em ambos os ensaios foram: consumo de ração, consumo de colina, conversão alimentar e ganho de peso. Para modelar as respostas considerou-se o consumo de colina como variável independente e ganho de peso como variável dependente. As respostas foram modeladas por cinco modelos matemáticos: broken line, broken line com ascendência quadrática, cinética de saturação, logístico e monomolecular e o melhor modelo foi selecionado pelo critério de Akaike. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do sistema computacional SAS[®] utilizando o procedimento PROC GLM para análise das pressuposições e análise de variância e PROC NLIN para o ajuste dos modelos. Os modelos que melhor se ajustaram foram: Broken line com ascendência quadrática (1.232 mg/kg ou 1,26 mg/g de GP – ensaio 1) e Logístico (2.280 mg/kg ou 1,26 mg/g de GP – ensaio 2) para o período de 1 a 7 dias. No período de 1 a 14 dias os modelos selecionados para o experimento com metionina normal e reduzida foram Logístico (950 mg/kg ou 1,16 mg/g de GP) e Broken line com ascendência quadrática (968 mg/kg ou 1,28 mg/g de GP), respectivamente. Já para o período de 1 a 21 dias foram a cinética de saturação, estimando uma exigência de 1.013 mg/kg ou 1,35 mg/g de GP para o experimento com metionina normal, e Broken line com ascendência quadrática estimando uma exigência de 872 mg/kg ou 1,21 mg de colina/g de GP para o experimento com metionina reduzida.

Palavras-chave: Colina; Dose-resposta; Exigência nutricional; Frangos de corte; Metionina

ABSTRACT

Mathematical models for prediction of nutritional requirement of the choline for chicks

Choline is an essential nutrient in the diets of chicks. Supplementation levels in feeds is variable and requirements have been established many years ago. Thus, the objective of this study was to reassess the responses of high genetic potential chicks from 1-7, 1-14 and 1 to 21 days as well as modeling the responses of different mathematical functions. Two trials were conducted using two dietary levels of methionine, based on the dose-response method. For the trials were used 2,160 Cobb 500 male broiler chicks (1,080 birds in each experiment), distributed in a completely randomized design with six treatments and six replicates and 30 birds per experimental unit. The treatments consisted of diets with levels of 390, 715, 1,040, 1,365, 1,690 and 2,015 mg/kg of choline. The diets were formulated using the supplementation method. The basal diet was formulated based on corn, soybean meal, soy protein concentrate, sugar and starch, and contained 390 mg/kg of choline and 0.596% of digestible methionine. Commercial choline chloride (62.5%) was supplemented to obtain the other levels. The second trial consisted of the same treatments of the first, but with 0.440% of digestible methionine. The variables measured in both trials were: feed intake (FI), intake of choline (IC), feed conversion (FC) and weight gain (WG). To model the responses, the variables used were the intake of choline as an independent variable and weight gain as the dependent variable. The responses were modeled by five mathematical models: broken line (ascending linear and quadratic segments), saturation kinetic, 4-parameter logistics and monomolecular models and the best model was selected by Akaike information criterion. Statistical analyzes were performed using the computer system SAS[®] using PROC GLM for analysis of the assumptions and analysis of variance and PROC NLIN to fit the models. The models that best fit were: broken line quadratic segments (1,232 mg/kg or 1.26 mg/g of WG - trial 1) and Logistics (2,280 mg/kg or 1.26 mg/g of WG - trial 2) for the period 1-7 days. In the period 1-14 days, the models selected for the experiment with normal and deficient methionine were Logistic (950 mg/kg or 1.16 mg/g WG) and broken line quadratic segments (968 mg/kg or 1.28 mg/g WG), respectively. For the period 1-21days, the models were the saturation kinetics, estimating a requirement of 1,013 mg/kg or 1.35 mg/g of WG for the experiment with normal methionine, and broken line quadratic segments estimating a requirement of 872 mg/kg or 1.21 mg choline/g of WG for the experiment with deficient methionine.

Keywords: Choline; Chicks; Dose-response; Methionine; Nutritional requirements

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula molecular da colina.....	25
Figura 2 - Relação entre respostas e ingestão do nutriente de diferentes indivíduos. Adaptado de Fischer et al. (1973)	28
Figura 3 - Curva de resposta dos animais à adição de um nutriente limitante à ração. Fonte: Adaptado de Rezende et al. (2007).....	30
Figura 4 - Respostas observadas (O) e preditas (P) para ganho de peso e consumo de colina no período de 1 a 7 dias de idade, utilizando para predição os modelos BLq (Metionina digestível normal) e LOGI (Metionina digestível reduzida).....	52
Figura 5 - Respostas observadas (O) e preditas (P) para ganho de peso e consumo de colina no período de 1 a 14 dias de idade, utilizando para predição o modelo LOGI (Metionina digestível normal) e BLq (Metionina digestível reduzida).....	55
Figura 6 - Respostas observadas (O) e preditas (P) para ganho de peso e consumo de colina no período de 1 a 21 dias de idade, utilizando para predição o modelo CS (Metionina digestível normal) e BLq (Metionina digestível reduzida).....	58
Figura 7 - Exigência de colina (mg/ave/dia) para o período de 1 a 21 dias de idade para os experimentos com metionina digestível normal e reduzida descrito pelo modelo BLq.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição percentual e atendimento nutricional das dietas experimentais do experimento com metionina normal (1 a 21 dias).....	39
Tabela 2 -	Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais do experimento com metionina reduzida (1 a 21 dias).....	41
Tabela 3 -	Níveis experimentais de colina em mg/kg de ração.....	42
Tabela 4 -	Níveis de colina e metionina digestível na dieta, consumo de ração (CR), consumo de colina (Ccol), ganho de peso das aves (GP) e conversão alimentar (CA) no período de 1 a 7 dias de idade.....	49
Tabela 5 -	Níveis de colina e metionina digestível na dieta, consumo de ração (CR), consumo de colina (Ccol), ganho de peso das aves (GP) e conversão alimentar (CA) no período de 1 a 14 dias de idade.....	49
Tabela 6 -	Níveis de colina e metionina digestível na dieta, consumo de ração (CR), consumo de colina (Ccol), ganho de peso das aves (GP) e conversão alimentar (CA) no período de 1 a 21 dias de idade.....	50
Tabela 7 -	Parâmetros (Ω) ajustados às respostas de ganho de peso de frangos de corte e estatísticas de ajuste dos modelos para idade de 1 a 7 dias (Metionina digestível normal).....	51
Tabela 8 -	Parâmetros (Ω) ajustados às respostas de ganho de peso de frangos de corte e estatísticas de ajuste dos modelos para idade de 1 a 7 dias (Metionina digestível reduzida).....	52
Tabela 9 -	Parâmetros (Ω) ajustados às respostas de ganho de peso de frangos de corte e estatísticas de ajuste dos modelos para idade de 1 a 14 dias (Metionina digestível normal).....	53
Tabela 10 -	Parâmetros (Ω) ajustados às respostas de ganho de peso de frangos de corte e estatísticas de ajuste dos modelos para idade de 1 a 14 dias (Metionina digestível reduzida).....	54
Tabela 11 -	Parâmetros (Ω) ajustados às respostas de ganho de peso de frangos de corte e estatísticas de ajuste dos modelos para idade de 1 a 21 dias (Metionina digestível normal).....	56
Tabela 12 -	Parâmetros (Ω) ajustados às respostas de ganho de peso de frangos de corte e estatísticas de ajuste dos modelos para idade de 1 a 21 dias (Metionina digestível reduzida).....	57
Tabela 13 -	Exigência nutricional de colina em mg/g de GP e mg/kg de ração para 95, 99 e 99,9% da resposta máxima GP _{max} dos experimentos com metionina digestível normal e reduzida no período de 1 a 7 dias.....	60
Tabela 14 -	Exigência nutricional de colina em mg/g de GP e mg/kg de ração para 95, 99 e 99,9% da resposta máxima GP _{max} dos experimentos com metionina digestível normal e reduzida no período de 1 a 14 dias.....	60
Tabela 15 -	Exigência nutricional de colina em mg/g de GP e mg/kg de ração	61

para 95, 99 e 99,9% da resposta máxima GPmax dos experimentos com metionina digestível normal e reduzida no período de 1 a 21 dias.....

Tabela 16 -	Estimativas dos parâmetros do modelo irrestrito (Ω), restritos (Ω), somas de quadrados residuais (SQR), hipóteses avaliadas (H), qui-quadrado (χ^2), graus de liberdade (GL) e nível descritivo do teste (valor p).....	64
Tabela 17 -	Peso do fígado (PF), gordura do fígado (GF) e deposição de gordura no fígado seco (DGFS) e gordura abdominal (GA) das aves submetidas a diferentes concentrações de colina na dieta	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIC	Critério de Akaike
BL	Broken line
BLQ	Broken line com ascendência quadrática
CA	Conversão alimentar
Ccol	Consumo de colina
CR	Consumo de ração
CS	Cinética de saturação
DGFS	Deposição de gordura no fígado seco
EM	Energia metabolizável
EP	Erro padrão da média
GF	Gordura no fígado
GL	Grau de liberdade
GP	Ganho de peso
GPP	Ganho de peso predito
H	Hipóteses avaliadas
LOGI	Logístico
MONO	Monomolecular
NRC	National Research Council
PB	Proteína bruta
PF	Peso do fígado
R^2 Ajust	Coeficiente de determinação ajustado
R^2	Coeficiente de determinação
SAS	Statistical Analysis System
SQR	Soma dos quadrados residuais

LISTA DE SÍMBOLOS

Ω	Modelo irrestrito
$\mathbb{C}\mathbb{D}$	Modelo restrito
χ^2	Qui-quadrado

1 INTRODUÇÃO

A formulação comercial de dietas para frangos de corte consiste na combinação de ingredientes em proporções adequadas para atingir o perfil nutricional desejado, visando nível ótimo entre desempenho e custo e, consequentemente, máxima rentabilidade.

Entre os componentes utilizados na formulação estão os suplementos de micronutrientes, como as vitaminas. As vitaminas são consideradas micronutrientes essenciais para o desenvolvimento animal em proporções adequadas para atender suas necessidades nutricionais, visando seu maior potencial de crescimento e a manutenção da saúde (HALVER, 1989).

A colina é um nutriente essencial na alimentação de aves, pois possui várias funções importantes nas atividades metabólicas. Dentre as suas funções se destaca como fonte de grupos metil para reações de metilação (COMBS Jr, 2008). Além da colina, a metionina também é doadora de grupos metil, porém assumem funções independentes na nutrição (QUILLIN, 1961). Vários estudos discutem a inter-relação da colina com a metionina (MARVEL et al., 1944; GARCIA-NETO et al., 2000).

Estudos conduzidos por Quillin et al. (1961) mostram que a relação existente entre a metionina e a colina é inversamente proporcional, ou seja, à medida em que se usou baixa concentração de colina em rações de frangos de corte, foi necessário maior concentração de metionina para atingir maior ganho de peso, provavelmente pela necessidade de doador de grupamento metílico, que pode ser compensado pela adição do aminoácido. Outros pesquisadores (DERILO; BALNAVE, 1980; MILES et al., 1983; POURREZA; SMITH, 1988) defendem que rações com maiores níveis de colina requerem maiores níveis de aminoácidos sulfurados. Desta forma, é necessário ter critério na determinação da exigência da colina para que a relação de um nutriente não mascare a função do outro.

O NRC (1994) preconiza uma exigência de colina de 1.300 mg/kg para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. Porém, há quase vinte anos esta exigência é utilizada como referência para a formulação das rações. No entanto, no decorrer dessa época até a atualidade houve mudanças no potencial genético e no padrão nutricional das rações. As pesquisas recomendam de 834 mg/kg (NGO; COON, 1974) até 1.910 mg/kg (PESTI et al., 1980) de colina para frangos de corte.

OBJETIVOS

Reavaliar as exigências nutricionais de colina total para frangos de corte de alto potencial genético no período de 1 a 7, 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade, sob dois níveis de metionina digestível (normal e reduzido) utilizando cinco modelos matemáticos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico da colina

A 2-hidroxietiltrimetilamônio ou colina $((\text{CH}_3)_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_2\text{OH}^-)$ (Figura 1) é conhecida há mais de cem anos como um importante componente da lecitina. Foi isolada pela primeira vez por Strecker em 1862 e sua estrutura foi determinada por Bayer logo em seguida. Somente em meados de 1920 que foi reconhecida a importância nutricional da colina, pelos pesquisadores Banting e Best (COMBS Jr, 2008).

Figura 1 - Fórmula molecular da colina

2.2 Importância da colina na célula animal

A colina é um nutriente essencial nas dietas de frangos de corte, pois apresenta várias funções no metabolismo animal. Dentre as suas funções pode-se destacar como constituinte da fosfatidilcolina, componente da acetilcolina, fator ativador de plaquetas, componente do plasmalogênio e fonte de grupos metil para reações de metilação (COMBS Jr, 2008).

A colina é considerada usualmente como uma vitamina do complexo B, embora, para alguns autores, poderia ser considerada como uma amina essencial, por não participar no metabolismo como coenzima e ser exigida em quantidades superiores às outras vitaminas do complexo B.

Em nível celular a colina é um precursor para a biossíntese de fosfolipídios: lecitina, esfingomiélin, entre outros, sendo estes essenciais constituintes das membranas. A lecitina participa da absorção e transporte das gorduras no fígado e da posterior mobilização e transporte das gorduras hepáticas. A esfingomiélin transporta e regula o metabolismo dos lipídeos e a acetilcolina é a substância

mediadora da atividade nervosa, sendo responsável pela transmissão dos estímulos nervosos (BERTECHINI, 2006).

Outra importante participação da colina no metabolismo celular é o fornecimento de grupos metil (DERILO; BALNAVE, 1980; CHENG et al., 1996; LEESON; SUMMERS, 2001). Para a metilação a colina é oxidada a betaína que serve como fonte ativa de grupos metil (SLINGER et al., 1970).

2.3 Problemas relacionados com a deficiência de colina em aves

O primeiro sintoma de deficiência de colina é a diminuição na taxa de crescimento; em seguida, surge a perose ou condrodistrofia (MACARI; BERCHIERI JÚNIOR, 2000). Outro sintoma bastante estudado que a deficiência de colina acarreta é a síndrome do fígado gorduroso.

O fígado é importante intermediador no metabolismo lipídico, e as proteínas transportadoras são imprescindíveis para o metabolismo acontecer perfeitamente. No entanto, quando se observa deficiência de colina há um comprometimento na mobilização de gordura hepática, gerando um quadro de fígado gorduroso pela redução de lipoproteínas transportadoras (ZEISEL, 1981).

Em estudo realizado por Zeisel (1981), com frangos machos, foi relatado que a síndrome do fígado gorduroso ocorreu quando as necessidades de colina não foram atendidas, levando a problemas de mobilização hepática pela redução das lipoproteínas transportadoras, ricas em lecitina, que contém a colina.

Em condições normais, o acúmulo de gordura hepática é de 5%, porém com a falta da colina pode chegar a 30% (BERTECHINI, 2006). O fígado gorduroso é caracterizado pelo acúmulo de gordura ou triglicerídeos no citoplasma dos hepatócitos. Em estudos histopatológicos Pompeu (2010) concluiu que a degeneração gordurosa dos fígados das aves aos 21 dias de idade diminuiu quando aumentou a suplementação de cloreto de colina nas rações, obtendo fígados saudáveis com suplementação de 400 mg/kg em uma dieta basal com 1.375 mg/kg de colina na dieta.

2.4 Utilização da colina em dietas para frangos de corte

A formulação comercial de dietas para frangos de corte consiste na combinação de ingredientes em proporções adequadas para atingir o perfil nutricional desejado, visando nível ótimo entre desempenho e custo, e, consequentemente, máxima rentabilidade.

A colina está amplamente distribuída nos alimentos utilizados na alimentação animal, dentre eles está o farelo de soja que contém 2.731 mg/kg (principal fonte de colina na dieta das aves) e o milho com 620 mg/kg de colina, de acordo com o National Research Council (NRC, 1994).

As recomendações do NRC são uma referência científica das exigências nutricionais dos animais e mesmo depois de aproximadamente 20 anos ainda são utilizadas para formulação de ração. O NRC (1994) preconiza uma exigência de 1.300 mg/kg de colina para frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, este valor de exigência é baseado em vários trabalhos (WEST et al., 1951; QUIILIN, 1961; FRITZ et al., 1967; MOLITORIS; BAKER, 1976a; LIPSTEIN et al., 1977; DERILO; BALNAVE, 1980; BAKER et al., 1983; LOWRY et al., 1987; TSIAGBE et al., 1987).

Em aves, a colina é um nutriente necessário para manutenção da saúde, reprodução e crescimento. Os primeiros trabalhos com colina foram publicados na década de 40. Na mesma década Abbott e Demasters (1940), concluíram que a adição de colina na ração aumentou a produção de ovos, diminuiu a mortalidade e a porcentagem de ácidos graxos no fígado. Hegsted et al. (1941) verificaram que a 0,1% de suplementação de colina na ração promoveu crescimento das aves e preveniu o aparecimento de perose.

Com a evolução das metodologias de análises químicas hoje é possível quantificar a colina com boa precisão (KOC et al., 2002) e justificar alguns resultados que no passado não se explicavam.

Quillin et al. (1961) suplementaram colina (0; 45,36 e 90,72 mg/kg) em uma ração basal que supria 1.540 mg/kg de colina e não encontraram efeito da suplementação de colina sintética na ração. Classen et al. (1965) observaram que frangos de corte precisam de no mínimo 1.434 mg/kg de colina total para um ótimo desempenho e Menten et al. (1997) verificaram que a resposta para ganho de peso estabilizou-se a partir da suplementação de 200 mg/kg de colina (atendimento de 1.430 mg/kg de colina total na ração).

Fritz et al. (1967) formularam dieta basal contendo 465 mg/kg de ração e testaram a dieta basal sem suplementação mais 14 níveis de suplementação de cloreto de colina em um experimento com frangos de corte de 1 a 21 dias de idade. As dietas tinham conteúdo de colina de 465 a 2.015 mg/kg. Ao final do ensaio concluíram que a resposta cessou com o nível de 1.515 mg de colina total por kg de ração.

Recentemente, Pompeu (2010) desenvolveu um trabalho com níveis de suplementação de cloreto de colina utilizando uma ração basal com 1.367 mg/kg de colina para fase inicial. A autora observou que os níveis experimentados para o período de um a 21 dias de idade (1.467 a 1.767 mg/kg de colina) não afetaram o ganho de peso.

2.5 Método dose-resposta

O método dose-resposta consiste na determinação das exigências nutricionais com base nas respostas de desempenho dos animais submetidos a níveis crescentes do nutriente nas dietas (SAKOMURA; ROSTAGNO, 2007).

A resposta da população é representada pela média dos indivíduos, conforme demonstrado na Figura 2.

Figura 2 - Relação entre respostas e ingestão do nutriente de diferentes indivíduos. Adaptado de Fischer et al. (1973)

Dentre as características deste método, discutidas por Sakomura e Rostagno (2007) adiciona-se a revisão destes autores a extrapolação dos resultados obtidos para população. A extrapolação dos resultados dose-resposta para população está relacionada ao modelo matemático utilizado na interpretação das respostas obtidas.

Devido a praticidade e simplicidade, o método dose-resposta tem sido utilizado na grande maioria dos estudos para definir as exigências de nutricionais das aves, constituindo a base para a elaboração de Tabelas como o NRC (1994) e as Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (ROSTAGNO et al., 2000; ROSTAGNO et al., 2005; ROSTAGNO et al., 2011).

2.6 Resposta animal à adição de um nutriente limitante à ração

O acréscimo de qualquer nutriente limitante na ração, mantendo níveis adequados dos demais nutrientes, resultará em crescimento do animal até que sua exigência seja atendida (EUCLYDES; ROSTAGNO, 2001).

Após a exigência ser atendida existirá uma faixa de estabilização no crescimento e em seguida, dependendo do nutriente que está sendo adicionado, poderá ocorrer uma perda de peso no animal até atingir o nível de toxidez. Isto pode ser verificado na curva de resposta dos animais à adição de um nutriente limitante à ração (Figura 3).

Desta maneira, a resposta animal divide-se em inicial, resposta, estável e tóxica. Na fase inicial o acréscimo do nutriente garante apenas à sobrevivência do animal, pois os níveis são insuficientes para permitir o crescimento. Na fase de resposta já é notável o crescimento dos animais, melhor eficiência alimentar, entre outras vantagens, até um nível em que se estabiliza o desempenho. Já na fase estável, os acréscimos nos níveis do nutriente não promovem resposta ao desempenho. A última fase é a tóxica, em que o nível elevado do nutriente pode causar redução no desempenho devido a efeitos colaterais que venham prejudicar o bem-estar do animal.

Figura 3 - Curva de resposta dos animais à adição de um nutriente limitante à ração.
Fonte: Adaptado de Rezende et al. (2007)

Esta curva resposta é de suma importância na formulação dos níveis a serem experimentais, uma vez que, na literatura existem vários trabalhos que não obtiveram sucesso na estimativa do nível ótimo de colina na ração (QUILLIN et al.; 1961; CARRATO, 1985; SWAIN & JOHRI, 2000; POMPEU, 2010) e um dos possíveis fatores que contribuíram para o fracasso é localização dos níveis experimentados próximo ou acima da região de estabilidade, ou seja, onde o nutriente não é limitante.

2.7 Metionina e colina como doadores de radical metil

A metionina é o primeiro aminoácido limitante em dietas de frangos de corte à base de milho e farelo de soja e funciona como um grupo intermediário chave na metil transferência. Numerosas reações de metilação envolvem metionina, que é convertida a S-adenosilmetionina, o doador do grupo metil, e em seguida em homocisteína (WALDROUP et al., 2006).

Uma reação imprescindível para saúde animal é a remetilação da homocisteína. Esta etapa requer um aceptor metilado (PANIZ et al., 2005) que pode ser cedido pela colina, bem como a betaina, conferindo a essas moléculas a capacidade de poupar a metionina. Deste modo, a colina como doadora de grupamentos metil na remetilação, possibilita que a metionina seja direcionada à

síntese proteica, poupando, assim, participação desse aminoácido na doação de grupos metil (METZLER-ZEBELI et al., 2009).

A metionina é conhecida por interagir com uma série de outros nutrientes essenciais, entre eles a colina (POURREZA; SMITH, 1988; SAUNDERSON; MACKINLAY, 1990).

Vários estudos discutem a relação existente entre a colina e a metionina como doadores de radical metil (MARVEL et al., 1944; CLANDININ et al., 1946; GERRY et al., 1948; SUNDE et al., 1951; WEST et al., 1951; FEATHERSTON; STEPHENSON, 1960; QUILLIN et al., 1961; PESTI et al., 1980; BAKER et al., 1983; MILES et al., 1983; TILLMAN; PESTI, 1986; GARCIA-NETO et al., 2000) porém com variação considerável nos resultados. Pesti et al. (1980) ressaltam que estudos dessa natureza são importantes pelo fato que as rações à base de milho e farelo de soja são limitantes como fontes doadoras de radicais metílicos para o metabolismo celular e, conseqüentemente, limitam a máxima expressão do potencial genético do animal.

O papel da metilação da metionina é fundamental para uma série de áreas do metabolismo intermediário, por exemplo, metabolismo de aminoácidos, síntese de fosfolipídeos, DNA e RNA (POURREZA; SMITH, 1988; SAUNDERSON; MACKINLAY, 1990).

Derilo e Balnave (1980) utilizaram rações com 571, 871, 1.171, 1.471 e 1.771 mg/kg de colina total associadas com 6,4 e 8,4 g/kg de metionina+cistina e puderam concluir que o maior nível de colina associado a 8,4 g/kg de metionina+cistina resultou em melhor resposta para ganho de peso e conversão alimentar, o que não foi observado com as demais combinações.

Estudos conduzidos por Quillin et al. (1961) mostram que a relação existente entre a metionina e a colina é inversamente proporcional, ou seja, à medida em que se usou baixa concentração de colina em rações de frangos de corte, foi necessária maior concentração de metionina para se atingir um maior ganho de peso, provavelmente pela necessidade de doador de grupamento metílico, que pode ser compensado pela adição do aminoácido.

Outros pesquisadores (MILES et al., 1983; POURREZA; SMITH, 1988) defendem que rações com maiores níveis de colina requerem maiores níveis de aminoácidos sulfurados, como a metionina. Já Carrato (1985), ao estudar os efeitos da substituição da metionina suplementar pela combinação de níveis diferentes de

cloreto de colina e sulfato de sódio, em rações para frangos de corte no período de um a 21 dias de idade, não observou efeito para ganho de peso das aves.

2.8 Colina e betaína nas dietas de frangos de corte

A betaína ($(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$) é um derivado metilado do aminoácido glicina definido como um composto de amônio quaternário zwitteriônico (YANCEY et al., 1982) e apresenta importante função na manutenção do equilíbrio osmótico e iônico, como também atua como fonte doadora de grupamentos metil (CH_3), que são compostos importantes para reações metabólicas, desde a metilação de DNA, RNA e membranas celulares lipídicas até a síntese de metionina, carnitina e creatina (STRYER, 1988).

Estudos realizados por Kettunen et al. (2001) permitiram concluir que a betaína é a única fonte doadora de grupamentos metílicos prontamente ativa. Por meio da oxidação na mitocôndria celular (porém sua formação não é suficiente), a colina é convertida em betaína, para ser aproveitada no processo de metilação.

Ao trabalhar com a adição de 1.000 mg/kg de colina, 1.000 mg/kg de betaína ou a combinação de 500 mg/kg de betaína mais 500 mg de colina, Waldroup et al. (2006) observaram maior produção de peito em frangos, independentemente dos níveis de metionina. Já Hassan et al. (2005) encontraram melhor desempenho de frangos suplementados com 1.172 mg/kg de colina ou com a combinação de 872 mg/kg de colina e 72 mg/kg de betaína.

2.9 Modelos matemáticos para prever as exigências nutricionais das aves

Diversos modelos de natureza linear ou não linear podem ser utilizados para descrever as respostas de desempenho animal. A modelagem na nutrição animal tem auxiliado a melhorar a compreensão da nutrição por mais de cinquenta anos (OVIEDO; WALDROUP, 2002).

A modelagem matemática constitui-se em uma das principais metodologias para o desenvolvimento de sistemas de apoio à tomada de decisões (BYWATER, 1990). Atualmente, na literatura têm-se vários modelos com aplicação na nutrição de aves, didaticamente separados em modelos lineares e não-lineares. Nos modelos lineares a resposta animal estimada é retilínea e são mais comumente utilizados na

avicultura brasileira (SIQUEIRA et al., 2009). Entretanto, em população de aves com o acréscimo da dose do nutriente limitante (X_{ni}) ocorre curvilinearidade da resposta (Y_{ni}). Nestas situações, modelos não-lineares são mais aplicáveis (MERCER, 1982). Dessa forma, além de aspectos estatísticos é necessário também considerar aspectos biológicos para determinar o modelo mais adequado.

Pesti et al. (1980) aplicaram três modelos matemáticos, linear simples, polinomial quadrático e cinética de saturação para determinar o nível de suplementação ideal de colina. Na análise matemática do ajuste dos modelos os autores utilizaram quadrado médio e coeficiente de determinação. A relação entre ganho de peso e ingestão de colina resultou em um modelo polinomial quadrático que estimou a maior recomendação (4.100 mg/kg), seguido do linear simples (2.130 mg /kg) e a menor estimativa foi obtida com o modelo cinética de saturação (1.910 mg/kg). Os autores justificaram que o modelo cinética de saturação apresentou melhor ajuste aos dados observados.

2.9.1 Modelos matemáticos

A simplificação é uma das características básicas do processo de modelagem, uma vez que modelos são, por definição, simplificações intencionais da realidade (ROTHEMBERG, 1989). A simplicidade é considerada uma virtude em modelagem matemática, porém, a omissão de alguns processos do sistema pode mascarar aspectos importantes do seu comportamento (THORNLEY, 1996).

Um modelo deve, portanto, ser tão simples quanto possível e tão complexo quanto necessário para uma dada aplicação, de modo a atingir um balanço ótimo entre erros de estrutura e parâmetros.

Os modelos propostos na literatura são classificados como: estáticos, dinâmicos, empíricos, mecanicistas, deterministas e estocásticos (BALDWIN; SAINZ, 1995; THORNLEY; FRANCE, 2006), conforme detalhado a seguir:

2.9.1.1 Modelos estáticos

Os modelos estáticos descrevem o fenômeno em determinado momento ou instante, ou seja, não consideram o tempo como variável. O método fatorial e os

modelos nutricionais descritas pelo NRC (1994) utilizados para estimar as exigências nutricionais são exemplos de modelos estáticos.

2.9.1.1 Modelos dinâmicos

Diferentemente do modelo estático, nos modelos dinâmicos os parâmetros podem variar no tempo, ou seja, a modelagem dinâmica aborda as mudanças temporais do sistema (animal). Tais modelos são representados pelas curvas de crescimento.

2.9.1.2 Modelos empíricos

A dificuldade em se definir os mecanismos envolvidos nos fenômenos biológicos faz com que a maioria dos modelos propostos para aves sejam empíricos.

Os modelos empíricos são baseados apenas em correlações ou associações entre duas ou mais variáveis. Esses modelos descrevem as respostas dos animais de forma quantitativa em condições específicas sem levar em consideração os mecanismos que controlam o fenômeno, ou seja, não exploram os mecanismos que determinam a resposta animal.

2.9.1.3 Modelos mecanicistas

A maioria dos modelos descreve o crescimento ou a produção de ovos do ponto de vista da composição corporal ou do ovo (energia, proteína, gordura, cinzas ou aminoácidos), de acordo com Oviedo-Rondón (2007).

Os modelos mecanicistas, contudo, operam buscando compreender os mecanismos que determinam o estado do sistema. Esses modelos são baseados em leis físicas, químicas e bioquímicas do animal e podem operar em diferentes níveis de agregação (tecido, célula ou molécula). Quanto mais agregado esse nível, melhor é a acurácia do modelo, entretanto maior é sua complexidade (BLACK, 1995). Os modelos mecanicistas comparados aos empíricos são mais flexíveis e podem estimar a resposta dos animais e as exigências nutricionais para várias condições (HAUSCHILD, 2010).

2.9.1.4 Modelos determinísticos

Na área de nutrição e manejo, a maioria dos modelos de simulação disponíveis atualmente são determinísticos. Estes modelos foram desenvolvidos para estimar o crescimento animal, uma vez que para determinados parâmetros da curva de crescimento e para determinada idade é obtida apenas uma resposta. Um exemplo seria a representação do peso médio esperado de uma linhagem para uma determinada idade.

2.9.1.5 Modelos estocásticos

Os modelos estocásticos (ou probabilísticos) são os mais utilizados nos estudos de melhoramento animal. Adicionando-se um fator de variação aleatória ao modelo determinístico obtém-se o modelo estocástico. Os modelos estocásticos representam a variação do sistema por incluírem elementos aleatórios ou distribuição de probabilidade no modelo. A distribuição normal é a distribuição de probabilidade mais empregada nos modelos estocásticos das pesquisas avícolas.

Os modelos estocásticos permitem a estimação dos parâmetros de dispersão. Embora matematicamente mais complexos medem a variabilidade dos indivíduos e operam em nível de população.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”- ESALQ/USP, Piracicaba, Estado de São Paulo.

3.1 Determinação da colina dos ingredientes

Para se ter precisão dos níveis de colina das rações experimentais, determinou-se a concentração de colina total dos ingredientes (milho grão, farelo de soja 46%, concentrado proteico de soja e glúten de milho 60%) utilizados na formulação das rações. O concentrado proteico de soja foi proveniente da Empresa IMCOPA - Araucária e o glúten de milho da Corn Products – Mogi-Guaçu. Estes ingredientes foram utilizados devido ao alto teor de proteína bruta e baixa concentração de colina. As análises foram realizadas por meio de cromatografia líquida/espectrofotometria de massa no Departamento de Nutrição da Universidade da Carolina do Norte, conforme a metodologia descrita por Koc et al. (2002). O milho grão, farelo de soja 46%, concentrado proteico de soja e glúten de milho continham em sua composição 440; 2.559; 423 e 645 mg/kg de colina total e betaína, respectivamente. Também foi determinada a concentração de colina presente no cloreto de colina comercial por meio do método gravimétrico conforme a metodologia proposta por Biying et al. (2002), no laboratório da Agrocerec Multimix – Rio Claro. Não foi realizada a determinação de colina nos ingredientes amido, açúcar e óleo de soja purificado, atribuindo-se valor zero a esses constituintes.

3.2 Formulações das rações experimentais e níveis experimentais

Foram realizados dois experimentos, o primeiro com níveis crescentes de colina mantendo-se o nível de metionina em 0,593% e o segundo utilizando-se os mesmos níveis de colina e reduzindo-se em $\frac{1}{4}$ o nível de metionina (0,440%).

As rações foram formuladas com base nos aminoácidos digestíveis e estabelecidas para manterem o mesmo nível energético, proteico, balanço eletrolítico e os principais aminoácidos limitantes, conforme as exigências nutricionais propostas por Rostagno et al. (2011). Para formulação da dieta basal

atribuiu-se o valor de 1,245% de lisina (que corresponde à porcentagem de lisina digestível na dieta para a idade de 11 dias) e multiplicou-se pela relação ideal dos demais aminoácidos digestíveis suplementados na dieta como a metionina, treonina, triptofano, glicina + serina e arginina.

Os valores do balanço eletrolítico (Número de Mogin em mEq/kg) foram obtidos por meio da aplicação da fórmula de Mongin e Sauveur (1977). Para manter o mesmo balanço de eletrólitos fixou-se o sódio, variando o cloro e o potássio da ração. Com o incremento nos valores de cloreto de colina, foi feito acréscimo de carbonato de potássio para ajustar o balanço eletrolítico.

Na formulação das rações considerou-se além dos valores de colina, os valores de betaína dos ingredientes devido a sua função como doadora de grupamentos metil.

O programa de alimentação consistiu em uma ração basal para todo o período experimental (1 a 21 dias de idade). A ração basal foi formulada com ingredientes selecionados que continham em sua composição níveis baixos de colina. As rações experimentais foram obtidas a partir de uma dieta basal a qual foi suplementada (técnica da suplementação) com o cloreto de colina (62,5%) para serem obtidos os níveis crescentes de colina. A adição do cloreto de colina foi feita em substituição a um ingrediente inerte (caulim) incorporado na ração basal. O mesmo procedimento foi estabelecido para o segundo experimento.

A composição da ração basal do primeiro experimento e os valores calculados estão apresentados na Tabela 1.

Devido à inter-relação da metionina com a colina, resolveu-se diminuir os níveis de metionina (VIANA et al., 2009) da ração para que a mesma não interferisse na função da colina como doadora de grupos metil.

Tabela 1 - Composição percentual e atendimento nutricional das dietas experimentais do experimento com metionina normal (1 a 21 dias)

Ingredientes	Níveis de colina, mg/kg					
	390	715	1.040	1.365	1.690	2.015
Milho grão	38,148	38,148	38,148	38,148	38,148	38,148
Concentrado proteico de soja	24,000	24,000	24,000	24,000	24,000	24,000
Amido	20,000	20,000	20,000	20,000	20,000	20,000
Glúten de milho 60%	4,000	4,000	4,000	4,000	4,000	4,000
Açúcar	4,000	4,000	4,000	4,000	4,000	4,000
Farelo de soja 46%	3,708	3,708	3,708	3,708	3,708	3,708
Fosfato bicálcico	1,621	1,621	1,621	1,621	1,621	1,621
Calcário	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878
Óleo de soja	1,275	1,275	1,275	1,275	1,275	1,275
Bicarbonato de sódio	0,475	0,475	0,475	0,475	0,475	0,475
Carbonato de potássio	0,101	0,122	0,144	0,166	0,187	0,209
Sal	0,154	0,154	0,154	0,154	0,154	0,154
L-Lisina HCl 78%	0,302	0,302	0,302	0,302	0,302	0,302
DL-Metionina 99%	0,256	0,256	0,256	0,256	0,256	0,256
L-Glicina 98,5%	0,099	0,099	0,099	0,099	0,099	0,099
L-Treonina 98%	0,088	0,088	0,088	0,088	0,088	0,088
L-Arginina 93%	0,065	0,065	0,065	0,065	0,065	0,065
L-Triptofano 98%	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004
Cloreto de colina 62,5%	0,000	0,070	0,139	0,209	0,278	0,348
Inerte ¹	0,620	0,529	0,438	0,346	0,255	0,164
Suplemento Vitamínico ²	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Suplemento Mineral ³	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Agente anticoccidiano ⁴	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Melhorador de desempenho ⁵	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados						
Energia metabolizável, kcal/kg	3.042	3.042	3.042	3.042	3.042	3.042
Ácido linoleico, %	1,802	1,802	1,802	1,802	1,802	1,802
Proteína bruta, %	22,42	22,42	22,42	22,42	22,42	22,42
Metionina digestível, %	0,593	0,593	0,593	0,593	0,593	0,593
Metionina+cistina digestível, %	0,896	0,896	0,896	0,896	0,896	0,896
Lisina digestível, %	1,245	1,245	1,245	1,245	1,245	1,245
Treonina digestível, %	0,809	0,809	0,809	0,809	0,809	0,809
Triptofano digestível, %	0,212	0,212	0,212	0,212	0,212	0,212
Valina digestível, %	0,971	0,971	0,971	0,971	0,971	0,971
Glicina+serina digestível, %	1,830	1,830	1,830	1,830	1,830	1,830
Arginina digestível, %	1,345	1,345	1,345	1,345	1,345	1,345
Cálcio, %	0,841	0,841	0,841	0,841	0,841	0,841
Fósforo disponível, %	0,401	0,401	0,401	0,401	0,401	0,401
Sódio, %	0,210	0,210	0,210	0,210	0,210	0,210
Cloro, %	0,190	0,201	0,212	0,223	0,234	0,245
Potássio, %	0,585	0,597	0,609	0,622	0,634	0,646
Balanco eletrolítico, mEq/kg	187,35	187,35	187,35	187,35	187,35	187,35

¹ Caulim. ² Fornecido por quilograma de dieta: Vitamina A, 9.000 UI; Vitamina D₃, 2.500 UI; Vitamina E, 20 UI; Vitamina K₃, 2,5 mg; Vitamina B₁, 1,5 mg; Vitamina B₂, 6 mg; Vitamina B₆, 3 mg; Vitamina B₁₂, 12 µg; Ácido pantotênico, 12 mg; Niacina, 25 mg; Ácido fólico, 0,8 mg; Biotina, 0,060 mg; Se, 0,25 mg. ³ Fornecido por quilograma de dieta: Cu, 10 mg; Fe, 50 mg; Mn, 80 mg; Co, 0,5 mg; I, 0,5 mg; Zn, 50 mg. ⁴ Salinomicina 12%; ⁵ Halquinol 60%.

A composição da ração basal ajustada para deficiência de metionina do segundo experimento apresenta-se na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição percentual e valores calculados das dietas experimentais do experimento com metionina reduzida (1 a 21 dias)

Ingredientes	Níveis de colina, mg/kg					
	390	715	1.040	1.365	1.690	2.015
Milho grão	38,148	38,148	38,148	38,148	38,148	38,148
Concentrado proteico de soja	24,000	24,000	24,000	24,000	24,000	24,000
Amido	20,000	20,000	20,000	20,000	20,000	20,000
Glúten de milho 60%	4,000	4,000	4,000	4,000	4,000	4,000
Açúcar	4,000	4,000	4,000	4,000	4,000	4,000
Farelo de soja 46%	3,708	3,708	3,708	3,708	3,708	3,708
Fosfato bicálcico	1,621	1,621	1,621	1,621	1,621	1,621
Calcário	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878	0,878
Óleo de soja	1,275	1,275	1,275	1,275	1,275	1,275
Bicarbonato de sódio	0,475	0,475	0,475	0,475	0,475	0,475
Carbonato de potássio	0,101	0,123	0,144	0,166	0,187	0,209
Sal	0,154	0,154	0,154	0,154	0,154	0,154
L-Lisina HCl 78%	0,302	0,302	0,302	0,302	0,302	0,302
DL-Metionina 99%	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
L-Glicina 98,5%	0,099	0,099	0,099	0,099	0,099	0,099
L-Treonina 98%	0,088	0,088	0,088	0,088	0,088	0,088
L-Arginina 93%	0,065	0,065	0,065	0,065	0,065	0,065
L-Triptofano 98%	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004
Cloreto de colina 62,5%	0,000	0,070	0,139	0,209	0,278	0,348
Inerte ¹	0,776	0,685	0,594	0,503	0,412	0,320
Suplemento Vitamínico ²	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Suplemento Mineral ³	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Agente anticoccidiano ⁴	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Melhorador de desempenho ⁵	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
Total	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Valores calculados						
Energia metabolizável, kcal/kg	3.042	3.042	3.042	3.042	3.042	3.042
Ácido linoleico, %	1,802	1,802	1,802	1,802	1,802	1,802
Proteína bruta, %	22,42	22,42	22,42	22,42	22,42	22,42
Metionina digestível, %	0,440	0,440	0,440	0,440	0,440	0,440
Metionina+cistina digestível, %	0,743	0,743	0,743	0,743	0,743	0,743
Lisina digestível, %	1,245	1,245	1,245	1,245	1,245	1,245
Treonina digestível, %	0,809	0,809	0,809	0,809	0,809	0,809
Triptofano digestível, %	0,212	0,212	0,212	0,212	0,212	0,212
Valina digestível, %	0,971	0,971	0,971	0,971	0,971	0,971
Glicina+serina digestível, %	1,830	1,830	1,830	1,830	1,830	1,830
Arginina digestível, %	1,345	1,345	1,345	1,345	1,345	1,345
Cálcio, %	0,841	0,841	0,841	0,841	0,841	0,841
Fósforo disponível, %	0,401	0,401	0,401	0,401	0,401	0,401
Sódio, %	0,210	0,210	0,210	0,210	0,210	0,210
Cloro, %	0,190	0,201	0,212	0,223	0,234	0,245
Potássio, %	0,585	0,597	0,609	0,622	0,634	0,646
Balanco eletrolítico, mEq/kg	187,35	187,35	187,35	187,35	187,35	187,35

¹ Caulim. ² Fornecido por quilograma de dieta: Vitamina A, 9.000 UI; Vitamina D₃, 2.500 UI; Vitamina E, 20 UI; Vitamina K₃, 2,5 mg; Vitamina B₁, 1,5 mg; Vitamina B₂, 6 mg; Vitamina B₆, 3 mg; Vitamina B₁₂, 12 µg; Ácido pantotênico, 12 mg; Niacina, 25 mg; Ácido fólico, 0,8 mg; Biotina, 0,060 mg; Se, 0,25 mg. ³ Fornecido por quilograma de dieta: Cu, 10 mg; Fe, 50 mg; Mn, 80 mg; Co, 0,5 mg; I, 0,5 mg; Zn, 50 mg. ⁴ Salinomicina 12%; ⁵ Halquinol 60%.

Os níveis experimentais de colina (Tabela 3) foram determinados para compreender toda fase de resposta da ave, conforme Baker (1986). Assim, foram formulados para estarem na fase inicial (390 mg/kg), resposta (715, 1.040 e 1.365 mg/kg) e estabilidade de resposta (1.690 e 2.015 mg/kg).

Tabela 3 - Níveis experimentais de colina em mg/kg de ração

Fase	Níveis de colina					
1 a 21 dias	390	715	1.040	1.365	1.690	2.015
Porcentagem da exigência*	30	55	80	105	130	155

*Valor referencial da exigência de 1 a 21 dias de idade (1.300 mg/kg = 100%), conforme o NRC (1994).

3.3 Experimento de crescimento para determinar as exigências nutricionais da colina para frangos de corte

3.3.1 Animais, alojamento e delineamento experimental

Com o objetivo de determinar as exigências de colina, foram conduzidos dois experimentos com frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, utilizando o método dose-resposta. O primeiro experimento foi conduzido no período de 10 a 31 de janeiro de 2012 e o segundo no período de sete a 28 de fevereiro de 2012. Para os experimentos foram utilizados 2.160 frangos de corte, machos (1.080 para cada ensaio). As aves foram sexadas pela asa e distribuídas uniformemente em 36 unidades experimentais com 4,5 m². O mesmo procedimento foi adotado para o segundo experimento.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente aleatorizado, com seis tratamentos e seis repetições, sendo cada unidade experimental composta por 30 aves.

As unidades experimentais foram forradas com papel durante os primeiros três dias sobre a cama de casca de arroz com 10 cm, dotadas de lâmpadas infravermelhas para o aquecimento das aves, um comedouro e um bebedouro infantil. O bebedouro infantil e o comedouro infantil foram substituídos por bebedouro pendular aos três dias de idade e o comedouro infantil foi substituído pelo adulto aos sete dias de idade.

Devido a dificuldade de movimentação das aves do tratamento com 390 mg/kg de colina, em razão do aparecimento de sinais de deficiência, aos sete dias

foi acrescentado mais um comedouro infantil (totalizando em dois) e o bebedouro infantil permaneceu até o final do experimento, juntamente com o bebedouro pendular. As práticas de manejo foram adotadas conforme as recomendações do manual da linhagem.

Durante o período experimental a temperatura variou de 22,9 a 31,7 °C e a umidade relativa do ar de 58 a 95% para o primeiro experimento (metionina normal). Para o segundo experimento (metionina reduzida) a temperatura variou de 24,6 a 32,7 °C e a umidade de 56 a 92%.

3.3.2 Variáveis de desempenho zootécnico avaliadas

As aves e as sobras de ração foram pesadas semanalmente (0, 7, 14 e 21 dias). Para ambos os experimentos as variáveis coletadas foram consumo de colina, consumo de ração e ganho de peso. A partir do consumo de ração e do ganho de peso obteve-se a conversão alimentar. O consumo de ração foi obtido por meio das informações do fornecido e das sobras de ração de cada unidade experimental. A conversão alimentar foi corrigida para mortalidade e calculada conforme Sakomura e Rostagno (2007).

Especificamente para o primeiro experimento foram determinadas a porcentagem de gordura no fígado (%), a deposição de gordura no fígado e a gordura abdominal. Para isso, uma ave por unidade experimental foi sacrificada ao final do experimento. Os fígados foram embalados e acondicionados em freezer a - 20 °C, em seguida liofilizados a - 50 °C, moídos e analisados quanto aos teores de matéria seca e extrato etéreo conforme as metodologias propostas pela AOAC (2005).

3.3.3 Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram submetidos à análise das pressuposições de normalidade dos erros e homocedasticidade da variância pelos testes de Levene, Brown & Forsythe e Bartlett. Sendo satisfeitas as pressuposições, os resultados foram submetidos à análise de variância, de acordo com o seguinte modelo estatístico: $Y_{ij} = \mu + Ccol_i + e_{ij}$; em que Y_{ij} é o valor observado com o i -ésimo nível de colina; μ é o efeito da média geral; $Ccol_i$ é o efeito do i -ésimo consumo de colina; e_{ij}

é o efeito casual ou erro experimental; e, quando verificado a rejeição da hipótese de nulidade na análise de variância, foi aplicada análise de regressão não linear, considerando como variável dependente ganho de peso (g/dia), conversão alimentar e como variável independente o consumo de colina (Ccol) em mg/ave/dia. Para a concentração de gordura no fígado, deposição de gordura no fígado e gordura abdominal foi realizada a análise de variância e em seguida aplicado o teste de comparação múltipla de Duncan.

Na estimativa do nível ótimo dos modelos lineares e não lineares exponenciais foram considerados 99,9% da resposta assintótica. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o procedimento PROC GLM para análise das pressuposições e análise de variância e PROC NLIN para o ajuste dos modelos. Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa computacional SAS® (Statistical Analysis System) versão 9.2.

3.3.4 Modelando as respostas das aves por diferentes funções matemáticas

As funções matemáticas foram aplicadas para explicar a relação entre consumo de colina (mg/ave/dia) e ganho de peso (GP, g/ave/dia). A modelagem foi feita por meio de modelos determinístico-empírico. A relação entre ganho de peso (GP) e o consumo de colina (Ccol) foi modelada por cinco funções matemáticas: Broken line (BL) e Broken line com ascendência quadrática (BLq) conforme Robbins et al. (2006), cinética de saturação (CS) de acordo com Morgan et al. (1975), Logística de 4 parâmetros (LOGI) de acordo com Ware et al. (1980) e monomolecular (MONO) conforme Kebreab et al. (2008).

Broken line (BL) - O modelo foi obtido de ROBBINS et al. (2006) e descreve a relação entre ganho de peso (GP) e a ingestão de colina (X) por três parâmetros conforme a eq. (1), em que GPmax é o máximo ganho de peso, U é a inclinação ou taxa de crescimento até o ponto de quebra, R é o nível de colina para se obter o GPmax ou o ponto de quebra. As estimativas por esse modelo são consideradas sob as condições de $X < R$ e quando $X > R$, considera-se $(R - X) = 0$, logo, $GP = GP_{max}$.

$$GP = GP_{max} + U * (R - X) \quad (1)$$

Broken line com ascendência quadrática (BLq) - Esta função foi obtida de Robbins et al. (2006) e descreve a relação entre GP e CCol (X) com três parâmetros de mesmo significado biológico da Broken line, sendo GPmax a resposta assintótica do modelo; U é a inclinação até o ponto de quebra e R é a exigência para expressar o GPmax ou ponto de quebra, conforme a eq. (2):

$$GP = GP_{max} + U * (R - X)^2 \quad (2)$$

As estimativas por esse modelo são consideradas sob as condições: $X < R$ e quando $X > R$, considera-se $(R - X)^2 = 0$, logo, $GP = GP_{max}$.

Cinética de saturação (CS) - Trata os estudos nutricionais como manifestações de fenômenos saturáveis. Este modelo foi obtido de Morgan et al. (1975) e possui 4 parâmetros: GPmax é a máxima resposta ou assintótica; b é o intercepto no eixo y; km é ingestão necessária para obter a metade da máxima resposta $\frac{1}{2} * (GP_{max} + b)$; n, é ordem cinética aparente, conforme a eq. (3):

$$GP = \frac{b \cdot km^n + GP_{max} \cdot X^n}{km^n + X^n} \quad (3)$$

Logística (LOGI) - Foi obtida de Ware et al. (1980), e descreve as respostas com 4 parâmetros, dos quais, dois são assíntotas. Em LOGI, GP_{max} significa a máxima resposta assintótica, GP_{min} significa a assíntota inferior, ou seja, o limite de GP quando a ingestão de colina tende a $-\infty$, $\lim_{x \rightarrow -\infty}(fx)$. O parâmetro c informa a ingestão mínima de colina para interceptação do eixo das ordenadas (y) $\neq 0$. parâmetro d relaciona-se à qualidade do nutriente, determina taxa de crescimento da função, de acordo com a eq. (4):

$$GP = \frac{GP_{max} + GP_{min} \cdot c \cdot d^X}{1 + c \cdot d^X} \quad (4)$$

Monomolecular (MONO) - Foi obtida por Kebreab et al. (2008) e busca aproximar a descrição matemática do fenômeno biológico. É descrita por três parâmetros sendo GPmax o valor assintótico para ganho de peso, b é a taxa de

crescimento da função e o terceiro parâmetro significa X_m é a ingestão de colina para ganho zero, ou seja, para manutenção conforme a eq. (5):

$$GP = GP_{\max} \cdot (1 - e^{(-b \cdot (X - X_m))}) \quad (5)$$

3.3.5 Avaliação e seleção dos modelos

Para avaliação dos ajustes dos modelos utilizou-se a máxima resposta ($GP_{\max}$), consumo estimado de colina (C_{col}), coeficiente de determinação ajustado (form. 1) e o critério de informação de Akaike de acordo com a eq. (2):

$$R^2_{\text{ajustado}} = (1 - [\text{Soma dos Quadrados do Resíduo} / (\text{Número de observações} - \text{Parâmetros} - 1)] / [\text{Soma dos Quadrados do Tratamento} / (\text{Número de observações} - 1)]) \quad (1)$$

$$AIC = (-2) \log^*(\text{máxima verossimilhança}) + 2 \cdot (\text{número de parâmetros}) \quad (2)$$

3.3.6 Análise de paralelismo

Os modelos ajustados para as diferentes técnicas foram submetidos à análise de identidade de modelo e igualdade de parâmetros pelo teste da razão de verossimilhança utilizando-se a estatística qui-quadrado (χ^2), conforme a metodologia descrita por REGAZZI (2003), que se encontra transcrita sucintamente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Respostas das aves à ingestão de colina com nível normal e reduzido de metionina digestível na dieta

A pressuposição de homogeneidade de variância dos experimentos foi testada e atendida. Os resultados obtidos para consumo de ração (CR), consumo de colina (Ccol), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) para os experimentos com níveis de metionina normal (Ensaio 1) e reduzida (Ensaio 2) de 1 a 7, 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade estão apresentados nas Tabelas 4, 5 e 6, respectivamente.

A concentração de colina na dieta não suplementada em ambos os ensaios, foi suficientemente baixa para provocar a deficiência de colina nas aves. A fase inicial de resposta foi obtida com 390 mg/kg de colina na dieta; com este nível as aves apresentaram menor ingestão de ração. A redução verificada foi aproximadamente de 33, 46 e 50% em relação ao máximo CR das aves de cada período.

As restrições foram menores na fase de 1 a 7 dias de idade, possivelmente, devido à contribuição do saco vitelino. Após o nascimento, cerca de 13,5% do peso da ave (45 g) corresponde à gema residual (6 g) (ETCHES, 1960 apud MEIJERHOF, 2008). Conforme o USDA Database for Choline Content of Common Foods (2008) a gema do ovo possui em sua composição 6,8 mg colina/g de gema, logo, o resíduo da gema (6 g) pode ter disponibilizado cerca de 40,8 mg de colina para o desenvolvimento inicial do pinto.

Considerando os quatros primeiros dias de vida, a colina disponível para funções vitais da ave (tratamento 390 mg/kg) foi estimada em 70,8 mg, sendo 40,8 mg oriundos da gema e 30 mg de colina ingerida (dieta). Isto resultaria em um déficit de 32 mg de colina, levando em consideração que o consumo nos 4 primeiros dias (79 g) com uma ração suprimindo 1.300 mg/kg de colina (NRC. 1994) representaria a ingestão de 102,8 mg de colina.

A deficiência de colina relacionada com a redução no CR refletiu no baixo crescimento da ave e, ao quarto dia de idade, as aves apresentaram problemas locomotores, possivelmente devido à necrose celular (REPETTO et al., 2010) ocasionada pela falta de colina, isto devido a redução em alguns fosfolipídios de membrana (esfingomielina, fosfatidilcolina e fosfatidiletanolamina), dificultando assim

o acesso aos comedouros e bebedouros em idades mais avançadas. Visualmente, o problema locomotor só foi detectado no quinto dia de vida, conforme comentado, a reserva de colina proveniente da gema foi utilizada pela ave até o segundo dia de vida e a quantidade de colina oriunda da dieta não supriu os requerimentos das aves, indicando que a ave já estava deficiente desde o terceiro dia de vida. Derilo e Balnave (1980), trabalhando com baixa concentração de colina (571 mg/kg) associada a dois níveis de metionina (6,4 e 8,4 g/kg), observaram baixo ganho de peso, alta mortalidade e maior nível de fraqueza nas pernas das aves no primeiros dias.

O nível de 390 mg de colina /kg de ração reduziu o ganho de peso em aproximadamente em 53% no período de 1 a 21 dias de idade. As aves alimentadas com 715 mg de colina/kg de ração tiveram o desempenho reduzido em 11%. A concentração de 1.040 mg/kg foi suficiente para recuperar o ganho de peso das aves em relação à média do ganho obtido com os níveis 1.365, 1.690 e 2.015 mg/kg (Tabela 6).

As aves submetidas às dietas com concentração de 2.015 mg/kg responderam de forma diferente quando o nível de metionina era normal ou reduzido. Observou-se uma redução de 6% do ganho de peso das aves alimentadas com 2.015 mg/kg e 0,440% de metionina na dieta (Tabela 6).

Tabela 4 - Níveis de colina e metionina digestível na dieta, consumo de ração (CR), consumo de colina (Ccol), ganho de peso das aves (GP) e conversão alimentar (CA) no período de 1 a 7 dias de idade

Níveis		CR	Ccol	GP	CA
Colina (mg/kg)	Metionina (%)	(g/ave.dia)	(mg/ave.dia)	(g/ave.dia)	
Metionina normal					
390	0,593	15,07	5,88	13,33	1,13
715	0,593	18,42	13,17	17,74	1,04
1.040	0,593	21,11	21,96	20,93	1,02
1.365	0,593	22,34	30,49	21,89	1,03
1.690	0,593	21,68	36,63	21,17	1,03
2.015	0,593	21,90	44,19	21,63	1,02
Média		20,09	25,39	19,45	1,04
Metionina reduzida					
390	0,440	14,52	5,66	12,75	1,14
715	0,440	19,12	13,67	17,28	1,11
1.040	0,440	20,11	20,92	18,97	1,06
1.365	0,440	21,75	29,69	19,90	1,09
1.690	0,440	21,18	35,80	19,90	1,06
2.015	0,440	21,29	42,90	19,88	1,07
Média		19,66	24,77	18,11	1,09

Tabela 5 - Níveis de colina e metionina digestível na dieta, consumo de ração (CR), consumo de colina (Ccol), ganho de peso das aves (GP) e conversão alimentar (CA) no período de 1 a 14 dias de idade

Níveis		CR	Ccol	GP	CA
Colina (mg/kg)	Metionina (%)	(g/ave.dia)	(mg/ave.dia)	(g/ave.dia)	
Metionina normal					
390	0,593	22,52	8,78	17,39	1,30
715	0,593	32,22	23,04	27,46	1,17
1.040	0,593	39,42	41,00	33,16	1,19
1.365	0,593	40,42	55,18	33,07	1,22
1.690	0,593	39,14	66,14	32,33	1,21
2.015	0,593	39,99	80,58	32,85	1,22
Média		35,62	45,79	29,38	1,22
Metionina reduzida					
390	0,440	21,56	8,408	15,62	1,38
715	0,440	33,01	23,60	26,41	1,25
1.040	0,440	37,69	39,20	30,28	1,25
1.365	0,440	41,16	56,18	30,82	1,34
1.690	0,440	39,01	65,92	30,46	1,28
2.015	0,440	39,02	78,63	30,03	1,30
Média		35,24	45,32	27,27	1,30

Tabela 6 - Níveis de colina e metionina digestível na dieta, consumo de ração (CR), consumo de colina (Ccol), ganho de peso das aves (GP) e conversão alimentar (CA) no período de 1 a 21 dias de idade

Níveis		CR	Ccol	GP	CA
Colina (mg/kg)	Metionina (%)	(g/ave.dia)	(mg/ave.dia)	(g/ave.dia)	
Metionina normal					
390	0,593	30,95	12,07	22,06	1,40
715	0,593	50,63	36,20	39,66	1,28
1.040	0,593	60,73	63,16	46,58	1,30
1.365	0,593	60,58	82,69	44,91	1,35
1.690	0,593	58,65	99,12	44,21	1,33
2.015	0,593	60,21	121,33	44,78	1,35
Média		53,62	69,09	40,37	1,33
Metionina reduzida					
390	0,440	28,79	11,23	19,77	1,46
715	0,440	49,69	35,53	37,30	1,33
1.040	0,440	54,62	56,81	40,32	1,36
1.365	0,440	58,08	79,27	41,41	1,40
1.690	0,440	55,95	94,56	41,06	1,36
2.015	0,440	55,26	111,35	38,83	1,43
Média		50,40	64,79	36,45	1,39

4.2 Modelando as respostas de frangos de corte por diferentes funções matemáticas

Os modelos ajustados às respostas de ganho de peso (GP), ingestão de colina (X) e parâmetros dos modelos (Ω) estão apresentados nas Tabelas 7, 9 e 11 para o ensaio com metionina normal e nas Tabelas 8, 10 e 12 para o experimento com metionina reduzida para as idades avaliadas (1 a 7, 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade).

Os critérios utilizados para avaliar a qualidade do ajuste do modelo às respostas de ganho de peso foram: variância residual (SQR), critério de informação de Akaike (AIC), R^2 e R^2 ajustado. O AIC foi utilizado para escolher os modelos de melhor ajuste, sendo eleitos os modelos que apresentaram menor AIC. Os menores valores de AIC coincidem com menores valores de soma do quadrado do resíduo e maiores valores de coeficiente de determinação.

De modo geral, todos os modelos apresentaram R^2 e R^2 ajustado satisfatórios. Fisher et al. (1973) relataram que o R^2 raramente pode levar à seleção de um modelo, no entanto, a exigência estimada do animal pode ser influenciada pelo modelo matemático escolhido, atribuindo importância à escolha de um modelo que apresente significado biológico. No presente estudo, os modelos broken line com ascendência quadrática (AIC = 51, Tabela 7) e logístico (AIC = 62,9, Tabela 8)

ofereceram melhores ajustes às respostas obtidas para os experimentos com metionina normal e reduzida, respectivamente, para a idade de 1 a 7 dias (Figura 4).

O modelo de pior ajuste ao conjunto de dados foi o monomolecular (AIC = 63, Tabela 7) para o ensaio com metionina normal e broken line (AIC = 91,1, Tabela 8) para o ensaio com metionina reduzida.

Tabela 7 - Parâmetros (Ω) ajustados às respostas de ganho de peso de frangos de corte e estatísticas de ajuste dos modelos para idade de 1 a 7 dias (Metionina digestível normal)

Funções	Ω	M	EP	SQR	AIC	R ²	R ² Ajust
BL	GP _{max}	21,470	0,142	10,26	57,7	96,84	96,52
	U	-0,481	0,024				
	R	22,149	0,637				
BLq	GP _{max}	21,525	0,12	6,70	51,0	97,94	97,73
	U	-0,016	0,002				
	R	28,255	1,102				
CS	GP _{max}	21,556	0,159	6,72	53,1	97,93	97,64
	b	13,117	0,281				
	n	4,793	0,996				
	K _m	12,666	0,355				
LOGI	GP _{max}	21,519	0,135	6,72	53,1	97,93	97,64
	GP _{min}	11,422	1,296				
	c	21,032	20,923				
	d	0,763	0,046				
MONO	GP _{max}	21,859	0,199	9,64	63,0	97,04	96,73
	b	0,114	0,010				
	X _m	-2,289	0,758				

Broken line (BL); Broken line com ascendência quadrática (BLq); Cinética de saturação (CS); Logístico (LOGI); Monomolecular (MONO); EP, erro padrão da média; SQR, variância residual; AIC, Critério de Informação de Akaike; R², Coeficiente de determinação; R²Ajust, Coeficiente de determinação ajustado para o número de parâmetros da equação.

Tabela 8 - Parâmetros (Ω) ajustados às respostas de ganho de peso de frangos de corte e estatísticas de ajuste dos modelos para idade de 1 a 7 dias (Metionina digestível reduzida)

Funções	Ω	M	EP	SQR	AIC	R ²	R ² Ajust
BL	GP _{max}	19,892	0,211				
	U	-0,411	0,032	22,17	91,90	91,07	90,18
	R	22,086	0,976				
BLq	GP _{max}	19,862	0,181				
	U	-0,015	0,003	16,60	82,10	93,32	92,65
	R	27,48	1,838				
CS	GP _{max}	20,445	0,373				
	b	11,405	1,375				
	n	2,684	0,885	9,48	63,90	96,18	95,62
	K _m	10,886	1,642				
LOGI	GP _{max}	20,233	0,230				
	GP _{min}	-0,52	24,633				
	c	1,323	2,844	9,21	62,90	96,29	95,74
	d	0,86	0,049				
MONO	GP _{max}	20,158	0,238				
	b	0,118	0,015	15,02	78,70	93,95	93,35
	X _m	-2,870	1,084				

Broken line (BL); Broken line com ascendência quadrática (BLq); Cinética de saturação (CS); Logístico (LOGI); Monomolecular (MONO); EP, erro padrão da média; SQR, variância residual; AIC, Critério de Informação de Akaike; R², Coeficiente de determinação; R²Ajust, Coeficiente de determinação ajustado para o número de parâmetros da equação.

Figura 4 - Respostas observadas (O) e preditas (P) para ganho de peso e consumo de colina no período de 1 a 7 dias de idade, utilizando para predição os modelos BLq (Metionina digestível normal) e LOGI (Metionina digestível reduzida)

No período de 1 a 14 dias o menor AIC foi observado para o modelo broken line. Embora o modelo broken line tenha um bom ajuste estatístico, ele não considera os aspectos fisiológicos do animal e, em muitos casos, subestima a dose ótima (PACK, 1996). Apesar do broken line estimar o nível ótimo, não considera os aumentos que poderiam justificar melhorias adicionais no desempenho. Logo, o uso de modelos não lineares descrevem pequenas melhorias no desempenho do animal com os incrementos das doses (PACK, 1996). Diante disso, optou-se por selecionar o modelo com o AIC mais próximo ao valor do AIC do Broken line e quando o valor do AIC mostrado pelo modelo Broken line foi igual a qualquer outro, preferiu-se selecionar o outro modelo.

Para o experimento com metionina normal no período de 1 a 14 dias o modelo selecionado foi o logístico (Tabela 9). Já para o experimento com metionina reduzida, o Broken line com ascendência quadrática ofereceu melhor ajuste às respostas para ganho de peso (Tabela 10).

Tabela 9 - Parâmetros (Ω) ajustados às respostas de ganho de peso de frangos de corte e estatísticas de ajuste dos modelos para idade de 1 a 14 dias (Metionina digestível normal)

Funções	Ω	M	EP	SQR	AIC	R ²	R ² Adjst
BL	GP _{max}	32,832	0,138				
	U	-0,71	0,026	12,07	70,50	98,95	98,84
	R	30,562	0,619				
BLq	GP _{max}	32,843	0,151				
	U	-0,013	0,001	12,97	72,80	98,87	98,75
	R	43,14	1,386				
CS	GP _{max}	32,84	0,143				
	b	17,391	0,263				
	n	9,295	2,466	12,01	72,30	98,95	98,8
	K _{0,5}	21,477	0,401				
LOGI	GP _{max}	32,835	0,140				
	GP _{min}	17,232	0,367				
	c	2463,8	6076,8	11,82	71,80	98,97	98,82
	d	0,692	0,074				
MONO	GP _{max}	33,193	0,26				
	b	0,079	0,006	24,91	94,40	97,83	97,61
	X _M	-0,504	0,783				

Broken line (BL); Broken line com ascendência quadrática (BLq); Cinética de saturação (CS); Logístico (LOGI); Monomolecular (MONO); EP, erro padrão da média; SQR, variância residual; AIC, Critério de Informação de Akaike; R², Coeficiente de determinação; R²Adjst, Coeficiente de determinação ajustado para o número de parâmetros da equação.

Tabela 10 - Parâmetros (Ω) ajustados às respostas de ganho de peso de frangos de corte e estatísticas de ajuste dos modelos para idade de 1 a 14 dias (Metionina digestível reduzida)

Funções	Ω	M	EP	SQR	AIC	R ²	R ² Ajust
BL	GP _{max}	30,376	0,24	39,33	111,40	96,34	95,97
	U	-0,713	0,043				
	R	29,144	0,97				
BLq	GP _{max}	30,396	0,246	39,28	111,40	96,34	95,98
	U	-0,015	0,002				
	R	40,162	2,209				
CS	GP _{max}	30,473	0,304	40,38	114,30	96,24	95,72
	B	15,501	0,593				
	N	5,733	2,957				
	K _{0,5}	19,821	1,820				
LOGI	GP _{max}	30,479	0,289	39,63	113,70	96,31	95,8
	GP _{min}	11,394	7,712				
	C	14,795	37,782				
	D	0,844	0,074				
MONO	GP _{max}	30,686	0,310	41,88	113,60	96,10	95,71
	B	0,087	0,009				
	X _M	0,288	0,926				

Broken line (BL); Broken line com ascendência quadrática (BLq); Cinética de saturação (CS); Logístico (LOGI); Monomolecular (MONO); EP, erro padrão da média; SQR, variância residual; AIC, Critério de Informação de Akaike; R², Coeficiente de determinação; R²Ajust, Coeficiente de determinação ajustado para o número de parâmetros da equação.

Na Figura 5 observa-se a predição pelo modelo Logístico (metionina normal) e broken line com ascendência quadrática (metionina reduzida) para o período de 1 a 14 dias. Quando existe uma fase resposta em relação à ingestão de um nutriente, os modelos logísticos se ajustam melhor as respostas, devido à amplitude nas respostas resultar em um formato de curvilíneo e neste formato os modelos logísticos se ajustam com qualidade (WARE et al., 1980).

Figura 5 - Respostas observadas (O) e preditas (P) para ganho de peso e consumo de colina no período de 1 a 14 dias de idade, utilizando para predição o modelo LOGI (Metionina digestível normal) e BLq (Metionina digestível reduzida)

As estatísticas de avaliação do ajuste dos modelos apresentadas nas Tabelas 11 e 12 indicam que os melhores ajustes às respostas no período de 1 a 21 dias de idade foram obtidos com CS e BLq para os experimentos com metionina normal e reduzida, respectivamente.

Tabela 11 - Parâmetros (Ω) ajustados às respostas de ganho de peso de frangos de corte e estatísticas de ajuste dos modelos para idade de 1 a 21 dias (Metionina digestível normal)

Funções	Ω	M	EP	SQR	AIC	R ²	R ² Ajust
BL	GP _{max}	45,158	0,248				
	U	-0,732	0,027	38,86	109,0	98,47	98,31
	R	43,651	0,916				
BLq	GP _{max}	45,164	0,254				
	U	-0,011	0,001	40,76	110,60	98,4	98,23
	R	59,004	2,142				
CS	GP _{max}	45,159	0,267				
	b	22,066	0,494				
	n	9,675	3,274	42,36	101,90	98,34	98,10
	K _{0.5}	31,914	1,239				
LOGI	GP _{max}	45,163	0,262				
	GP _{min}	21,816	0,733				
	c	1693,1	5461,8	41,51	113,20	98,37	98,14
	d	0,788	0,071				
MONO	GP _{max}	45,322	0,368				
	b	0,064	0,006	61,21	124,00	97,59	97,35
	X _M	1,733	1,010				

Broken line (BL); Broken line com ascendência quadrática (BLq); Cinética de saturação (CS); Logístico (LOGI); Monomolecular (MONO); EP, erro padrão da média; SQR, variância residual; AIC, Critério de Informação de Akaike; R², Coeficiente de determinação; R²Ajust, Coeficiente de determinação ajustado para o número de parâmetros da equação.

Tabela 12 - Parâmetros (Ω) ajustados às respostas de ganho de peso de frangos de corte e estatísticas de ajuste dos modelos para idade de 1 a 21 dias (Metionina degestível reduzida)

Funções	Ω	M	EP	SQR	AIC	R ²	R ² Ajust
BL	GP _{max}	40,327	0,434	128,60	151,70	93,99	93,39
	U	-0,723	0,048				
	R	39,699	1,487				
BLq	GP _{max}	40,33	0,434	128,60	151,70	94,00	93,4
	U	-0,013	0,003				
	R	50,566	3,720				
CS	GP _{max}	40,337	0,456	132,10	154,60	93,82	92,97
	b	19,765	0,857				
	n	10,056	9,893				
	K _{0.5}	29,738	4,807				
LOGI	GP _{max}	40,443	0,511	129,30	153,90	93,96	93,12
	GP _{min}	-8,551	111,7				
	c	2,205	10,296				
	d	0,906	0,06				
MONO	GP _{max}	40,496	0,497	129,90	154,20	93,93	93,32
	b	0,078	0,013				
	X _M	2,677	1,471				

Broken line (BL); Broken line com ascendência quadrática (BLq); Cinética de saturação (CS); Logístico (LOGI); Monomolecular (MONO); EP, erro padrão da média; SQR, variância residual; AIC, Critério de Informação de Akaike; R², Coeficiente de determinação; R²Ajust, Coeficiente de determinação ajustado para o número de parâmetros da equação.

Na Figura 6 estão às respostas observadas e preditas em função do consumo de colina e ganho de peso das aves utilizando os modelos CS e BLq para o período de 1 a 21 dias de idade.

Figura 6 - Respostas observadas (O) e preditas (P) para ganho de peso e consumo de colina no período de 1 a 21 dias de idade, utilizando para predição o modelo CS (Metionina digestível normal) e BLq (Metionina digestível reduzida)

O modelo BLq é uma equação polinomial de segundo grau, portanto, de natureza linear. Os parâmetros deste modelo permitem o entendimento simplificado das respostas das aves, além de suas interpretações matemáticas serem simples, favorecendo sua aplicação. O modelo BLq engloba toda fase de resposta do animal à adição de um nutriente sendo dois níveis abrangendo a fase de resposta, na qual os animais começam a apresentar crescimento e melhor eficiência na utilização do nutriente, e outros quatro níveis na fase de estabilidade ou platô de resposta, sendo a fase em que a adição do nutriente limitante não promove resposta no desempenho dos animais.

Os parâmetros dos modelos são de suma importância para interpretação do fenômeno biológico. Uma informação interessante pode ser obtida com o modelo monomolecular. O parâmetro X_m desta função fornece a informação da quantidade mínima para manter o sistema em equilíbrio (ganho de peso = 0), ou seja, exigência de manutenção do nutriente.

No entanto, este parâmetro convergiu valores não condizentes para exigência de manutenção nos períodos de 1 a 7 e 1 a 14 dias. Aos 7 dias, o modelo sugere que a colina não é um nutriente essencial para manutenção do corpo. A extrapolação para

ganho zero estima em -2,28 mg/ave/dia a exigência de colina. Conforme comentado, a colina presente no resíduo da gema pode ter influenciado a magnitude da deficiência e o significado biológico do parâmetro do modelo monomolecular.

Aos 14 dias, esta influência foi minimizada, mas ainda interferiu na estimativa do parâmetro do modelo. O coeficiente estimado nesta idade apresentou um erro significativo para ser considerado na interpretação do fenômeno. No período de 1 a 21 dias de idade, a influência do resíduo da gema foi minimizada e os coeficientes estimados para ganho zero foram 1,73 e 2,68 mg/ave/dia para os ensaios com metionina normal e reduzida, respectivamente. Estas exigências para manutenção correspondem apenas cerca de 4% da exigência diária de colina calculada para o período e, nos dois experimentos, a diferença entre os valores coincide com o esperado para os dois níveis de metionina utilizados.

4.3 Determinação das exigências nutricionais da colina para os períodos de 1 a 7, 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade

As exigências nutricionais da colina para frangos de corte no período de 1 a 7, 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade estão apresentados nas Tabelas 13, 14 e 15. O nível ótimo da colina foi definido como sendo aquele correspondente a 99,9% da resposta máxima (para todos os modelos) da variável dependente estimada pelo modelo (ganho de peso), pois representaram melhor as respostas obtidas nos experimentos.

Todos os cálculos foram realizados com base no consumo diário de colina. O cálculo foi definido entre a razão da exigência em mg de colina/g de GP e o consumo de ração. Para calcular a concentração de colina na dieta em mg/kg (ppm) foi estabelecido um consumo de 22 e 21 gramas de ração para o período de 1 a 7 dias do experimento com metionina normal e reduzida, respectivamente, e no período de 1 a 14 dias o consumo foi estabelecido em 40 gramas para ambos os ensaios. Para o período de 1 a 21 dias foi considerado um consumo de 60 gramas para o primeiro experimento e 56 gramas para o segundo.

Tabela 13 - Exigência nutricional de colina em mg/g de GP e mg/kg de ração para 95, 99 e 99,9% da resposta máxima GPmax dos experimentos com metionina digestível normal e reduzida no período de 1 a 7 dias

Modelo	95% GPmax		99% GPmax		99,9% GPmax	
	N ¹	R ²	N	R	N	R
mg de colina/g de GP						
BL	0,98	1,04	1,02	1,10	1,03	1,11
BLQ	0,99	1,02	1,16	1,21	1,26	1,33
CS	0,92	1,21	1,27	2,19	2,04	5,15
LOGI	0,94	1,12	1,20	1,62	1,58	2,37
MONO	1,16	1,18	1,76	1,82	2,67	2,78
mg de colina/kg de ração						
BL	905	936	987	1.029	1.005	1.049
BLQ	916	918	1.120	1.134	1.232	1.253
CS	860	1.117	1.231	2.109	2.000	5.013
LOGI	871	1.028	1.157	1.550	1.548	2.280
MONO	1.090	1.077	1.732	1.730	2.650	2.663

¹ Metionina normal, ² Metionina reduzida.

Tabela 14 - Exigência nutricional de colina em mg/g de GP e mg/kg de ração para 95, 99 e 99,9% da resposta máxima GPmax dos experimentos com metionina digestível normal e reduzida no período de 1 a 14 dias

Modelo	95% GPmax		99% GPmax		99,9% GPmax	
	N ¹	R ²	N	R	N	R
mg de colina/g de GP						
BL	0,91	0,94	0,93	0,95	0,93	0,96
BLQ	1,02	1,04	1,17	1,18	1,27	1,28
CS	0,87	1,00	1,00	1,29	1,27	1,92
LOGI	0,87	1,04	0,97	1,33	1,16	1,76
MONO	1,18	1,19	1,75	1,75	2,62	2,59
mg de colina/kg de ração						
BL	706	675	753	718	763	728
BLQ	799	750	953	890	1.039	968
CS	675	725	811	974	1.041	1.460
LOGI	677	756	792	1.002	950	1.343
MONO	933	865	1.441	1.326	2.168	1.985

¹ Metionina normal, ² Metionina reduzida.

Tabela 15 - Exigência nutricional de colina em mg/g de GP e mg/kg de ração para 95, 99 e 99,9% da resposta máxima GPmax dos experimentos com metionina digestível normal e reduzida no período de 1 a 21 dias

Modelo	95% GPmax		99% GPmax		99,9% GPmax	
	N ¹	R ²	N	R	N	R
mg de colina/g de GP						
BL	0,95	0,96	0,96	0,98	0,97	0,98
BLQ	1,04	1,00	1,17	1,13	1,26	1,21
CS	0,94	0,97	1,07	1,10	1,35	1,37
LOGI	0,94	1,04	1,06	1,42	1,27	1,99
MONO	1,12	1,06	1,64	1,53	2,41	2,24
mg de colina/kg de ração						
BL	676	659	717	699	726	708
BLQ	740	683	876	805	950	872
CS	669	662	797	784	1.013	987
LOGI	675	715	793	1.014	955	1.434
MONO	807	730	1.224	1.097	1.822	1.621

¹ Metionina normal, ² Metionina reduzida.

Uma ração formulada para atender as exigências nutricionais de frangos de corte de 1 a 7 dias (2.960 kcal/kg de EM e 22,7% de PB) contendo 54% de milho e 39% de farelo de soja contém 1.236 mg/kg de colina. Com estas proporções de ingredientes não haveria necessidade da suplementação com o cloreto de colina na ração para esta fase considerando o modelo BLq, pois o mesmo estima uma exigência de 1.232 mg/kg, considerando 99,9 da resposta máxima para esta fase.

Se forem levados em consideração os valores de colina do milho e farelo de soja conforme o NRC (1994), com as mesmas proporções dos ingredientes têm-se 1.400 mg/kg de colina. Considerando os resultados das análises do milho e do farelo de soja, o conteúdo de colina na ração seria de 1.232 mg/kg, resultando em uma diferença de 168 mg/kg a menos de colina na ração.

O modelo que melhor se ajustou aos dados de 1 a 7 dias para o experimento com metionina reduzida foi o logística que estimou a exigência de 2.280 mg/kg de colina na ração ou 2,37 mg/g de GP/dia. Logo, necessitaria de uma suplementação de 1.048 mg de colina na ração utilizando a redução de ¼ de metionina na dieta.

A exigência determinada para o período de 1 a 14 dias de idade foi de 950 mg/kg ou 1,16 mg/g de GP/dia estimado pelo modelo logístico para o experimento com metionina normal e 968 mg/kg ou 1,28 mg/g de GP para o experimento com metionina reduzida estimada pelo BLq.

Uma ração formulada para atender as exigências nutricionais de frangos de corte de 1 a 14 dias (3.000 kcal/kg de EM e 21% de PB) contendo 58% de milho e 34% de farelo de soja contém 1.126 mg/kg de colina. Levando em consideração os valores de colina do NRC, tem-se uma concentração de 1.288 mg/kg na dieta, o que resultaria em uma diferença de 162 mg/kg de colina.

A exigência determinada pelo presente trabalho para o período de 1 a 21 dias de idade foi de 1.013 mg/kg estimada pelo modelo CS para o experimento com metionina normal e 872 mg/kg para metionina reduzida estimada pelo BLq.

Uma ração contendo 62% de milho e 31% de farelo de soja atendendo 3.050 kcal/kg de EM e 20% de PB para a fase de 1 a 21 dias contém 1.066 mg/kg de colina na dieta. Pelo NRC (1994) a concentração de colina na ração seria de 1.231 mg/kg, o que teria uma diferença de 165 mg/kg de colina na ração.

Isso significa que não há necessidade de suplementar com cloreto de colina as rações à base de milho e farelo de soja, pois as quantidades que os ingredientes contêm já suprem a necessidade da ave. Porém, esta afirmação só é válida para proporções de milho e farelo de soja iguais às contidas neste trabalho, pois se forem utilizados ingredientes com baixa concentração e/ou baixa disponibilidade de colina haverá a necessidade da suplementação com o produto cloreto de colina.

Na literatura, as exigências nutricionais variam de 834 mg/kg (NGO; COON, 1974) até 1.910 mg/kg (PESTI et al., 1980) de colina para frangos de corte. Esta variação pode estar associada às diferentes biodisponibilidades de colina existente nos ingredientes utilizados conforme Molitoris e Baker (1976b). Estes autores encontraram uma biodisponibilidade da colina no farelo de soja entre 60 a 75%.

É importante quantificar a colina biodisponível para garantir a adequação de dietas administradas aos animais em crescimento e para determinar os efeitos do processamento na biodisponibilidade da colina (EMMERT et al. 1996). Estes autores avaliaram a biodisponibilidade da colina em uma dieta purificada e na lecitina de soja e encontraram 100% de biodisponibilidade da colina.

Quillin et al. (1961) não encontraram efeito da suplementação de colina sintética em frangos de corte no período de 1 a 56 dias utilizando uma ração basal com 1.540 mg/kg de colina na ração. Classen et al. (1965) observaram que frangos de corte precisam de no mínimo 1.434 mg/kg de colina total para um ótimo desempenho. Fritz et al. (1967) encontraram melhores repostas para ganho de peso com o nível de 1.515 mg de colina total por kg de ração para o período de 1 a 28

dias de idade. Menten et al. (1997) concluíram que 1.430 mg/kg de colina na ração é suficiente para otimizar o ganho de peso com pintos de corte no período de 4 a 18 dias de idade.

Já NGO e COON (1974) utilizaram uma dieta à base de milho e caseína para determinar a exigência de colina para aves de corte e observaram que as melhores respostas foram obtidas com rações contendo 834 mg/kg para aves de 1 a 23 dias de idade.

Conforme o NRC (1984, 1994), o consumo de pintos no período de 1 a 7 dias de idade é estimado em 120 e 135 gramas, respectivamente. O Manual da Linhagem Agross (1997) mostra um consumo de 144 g para o mesmo período. Nos dias atuais o consumo dos pintos é cerca de 180 g para o período de 1 a 7 dias (Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos).

Como visto, o consumo das aves vem aumentando continuamente. Isto pode ser um indicativo de que o consumo de colina pode ser compensado pelo aumento de consumo de ração, não implicando que a concentração de colina na ração devesse ser aumentada com a evolução genética das aves. Outro ponto é que as rações com melhor balanceamento em aminoácidos podem exigir menos colina para a função de excreção de excesso de nitrogênio. Desta forma, os valores da estimativa anterior de 1.300 mg/kg de colina (NRC, 1994), e desta reavaliada no presente estudo (1.013 mg/kg), não são contraditórios, podendo ser explicados pelo aumento no consumo de ração por ave.

4.4 Efeito da metionina sobre exigência de colina total

As respostas de ingestão de colina e ganho de peso dos experimentos 1 e 2 de 1 a 21 dias de idade foram submetidas à análise de homocedasticidade de variância pelos testes de Levene, Bartlett e Brown; Forsythe. Os testes revelaram que as variâncias foram homocedásticas, portanto, as respostas dos ensaios foram analisadas conjuntamente por meio da análise de identidade de modelos e igualdade de parâmetros, utilizando o modelo BLq para interpretação das respostas. Os resultados para o modelo irrestrito (Ω) e restrito (ζ) estão sumarizados na Tabela 16.

O modelo irrestrito (Ω) contém toda variância de cada ensaio e os demais modelos (ζ) possuem alguma restrição que tem por objetivo encontrar uma

redução no número de parâmetro para explicar toda variância original. A primeira restrição ζ_1 foi no parâmetro de máxima resposta ou (GPmax), ou seja, este modelo tem por objetivo explicar todas as respostas utilizando um único GPmax. A variância obtida com essa restrição foi significativa, portanto os ensaios não podem ser explicados com um único GPmax, logo, a redução da metionina afetou a máxima resposta das aves.

Tabela 16 - Estimativas dos parâmetros do modelo irrestrito (Ω), restritos (ζ), somas de quadrados residuais (SQR), hipóteses avaliadas (H), qui-quadrado (χ^2), graus de liberdade (GL) e nível descritivo do teste (valor p)

Parâmetros	Ω	ζ_1	ζ_2	ζ_3	ζ_4	ζ_5
GPmax _N	45,200	-	45,100	45,000	-	-
U _N	-0,011	-0,013	-	-0,012	-0,011	-
R _N	59,004	51,631	56,815	-	-	-
GPmax _D	40,330	-	40,412	40,528	-	-
U _D	-0,013	-0,008	-	-0,011	-0,012	-
R _D	50,566	63,367	53,163	-	-	-
GPmax	-	42,849	-	-	42,702	42,692
U	-	-	-0,012	-	-	-0,012
R	-	-	-	55,188	54,945	54,621
SQR	169,4	416,7	173,1	180,2	430,2	439,8
Hipóteses		GL		χ^2_{cal}	Valor-p	
					P	$\chi^2_{Tab} > \chi^2_{cal}$
$H_0^{\zeta_1}$: GPmax _N = GPmax _D = GPmax		1		60,3	0,0000	*
$H_0^{\zeta_2}$: U _N = U _D = U		1		1,45	0,2289	NS
$H_0^{\zeta_3}$: R _N = R _D = R		1		4,14	0,0419	*
$H_0^{\zeta_4}$: GPmax _N = GPmax _D = GPmax e R _N = R _D = R		2		62,4	0,0000	*
$H_0^{\zeta_5}$: GPmax _N = GPmax _D = GPmax, U _N = U _D = U e R _N = R _D = R		3		63,9	0,0000	*

χ^2_{cal} calculado = $-n \cdot \ln(n \cdot SQR_{\Omega} / n \cdot SQR_{\zeta_i})$; χ^2_{Tab} , Tabelado; GL: Graus de liberdade; * Significativo, NS, não significativo.

A segunda restrição ζ_2 foi realizada na inclinação do modelo (U). A variância obtida com a restrição ζ_2 não difere da variância original pelo teste qui-quadrado. Portanto, pode-se utilizar uma única inclinação para explicar as respostas obtidas nos dois ensaios, ou seja, a redução da metionina na dieta não afetou a taxa com que as aves responderam até o ponto de quebra da função.

A terceira restrição ζ_3 consistiu em verificar se a metionina afetou a exigência de colina para expressar a máxima resposta (R) estimada pelo modelo

BLq. A estatística qui-quadrado para razão da máxima verossimilhança informa que o efeito da metionina foi significativo, portanto, cada ensaio deve ser explicado com as respectivas exigências. Este resultado relaciona-se a constatação do CQ1, uma vez que o máximo crescimento foi relacionado ao nível normal de metionina na dieta e ressalta que a exigência para um GPmax é específico para cada ensaio.

A quarta restrição CQ4 objetivou verificar se é possível explicar as respostas com um único GPmax e R. A variância obtida para o modelo CQ3 foi 180,2 e, quando aplicado a restrição no GPmax (CQ4), a variância aumentou para 430,2. A estatística qui-quadrado revelou que não é possível utilizar esses coeficientes para explicar as respostas.

A hipótese de se ter um único modelo para explicar ambos os ensaios foi testada no modelo CQ5 e foi observado uma maior variância entre os modelos restritos, logo, não foi possível estabelecer um modelo generalizado para ambos os ensaios. A exigência para máxima resposta é específica ao GPmax, portanto, acredita-se que a metionina afetou apenas a máxima expressão do ganho de peso e que os níveis excedentes de colina não foram suficientes para recuperar o máximo ganho de peso das aves, conforme mostra a Figura 7.

Figura 7 - Exigência de colina (mg/ave/dia) para o período de 1 a 21 dias de idade para os experimentos com metionina digestível normal e reduzida descrito pelo modelo BLq

4.5 Determinação de gordura dos fígados das aves do Ensaio 1

Os valores de peso dos fígados, gordura do fígado, deposição de gordura no fígado e gordura abdominal estão apresentados na Tabela 17. Houve diferença significativa ($P < 0,001$) do peso do fígado das aves alimentadas com diferentes concentrações de colina na dieta. Foi observado maior peso do fígado das aves que consumiram ração com 0,104%. A menor quantidade de gordura e menor deposição de gordura no fígado como também menor quantidade de gordura abdominal foi observada para as aves do tratamento com menor nível de colina na dieta o que está relacionado ao não crescimento das aves. Em relação à quantidade de gordura no fígado não foi observado diferença significativa entre os tratamentos que pode estar atribuído ao alto coeficiente de variação.

Alguns autores ressaltam que dietas com baixa concentração de colina aumenta a quantidade de gordura no fígado devido ao comprometimento na mobilização de gordura hepática, gerando um quadro de fígado gorduroso pela redução de lipoproteínas transportadoras (ZEISEL, 1981; BERTECHINI, 2006).

Tabela 17 - Peso do fígado (PF), gordura do fígado (GF) e deposição de gordura no fígado seco (DGFS) e gordura abdominal (GA) das aves submetidas a diferentes concentrações de colina na dieta

Níveis		PF	GF	DGFS	GA
Colina (mg/kg)	Metionina (%)	(g)	(%)	(g)	(g)
390	0,593	12,05 ^C	15,74	0,45 ^B	3,02 ^C
715	0,593	22,82 ^B	17,90	0,88 ^A	11,95 ^B
1.040	0,593	26,38 ^A	14,71	0,96 ^A	15,21 ^A
1.365	0,593	23,32 ^B	16,48	0,83 ^A	13,22 ^{AB}
1.690	0,593	23,49 ^{AB}	16,84	1,01 ^A	11,28 ^B
2.015	0,593	25,20 ^{AB}	16,47	1,00 ^A	14,02 ^{AB}
Média		22,21	16,36	0,852	11,45
F		**	NS	**	**
CV, (%)		10,61	18,25	21,76	21,31

** $P < 0,001$; ^{NS}, não significativo; ^{A,B,C}, Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Duncan ($P > 0,05$).

Pompeu (2010) analisou a quantidade de gordura no fígado de frangos de corte com 21 e 43 dias de idade e também não verificou diferença entre os tratamentos com níveis crescentes de colina (1.057 a 2.651 mg/kg).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os modelos que melhor se ajustaram ao conjunto de dados foram: Broken line com ascendência quadrática, logístico e cinética de saturação. Houve diferença na exigência nutricional dos frangos de corte que consumiram diferentes níveis de metionina na dieta. Para os períodos de 1 a 7, 1 a 14 e 1 a 21 dias de idade recomenda-se 1.232, 950 e 1.013 mg/kg de colina na dieta para o ensaio com metionina normal e 2.280, 968 e 872 mg/kg, respectivamente para o ensaio com metionina reduzida.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, O.D.; DEMASTERS, C.U. Choline in the diet of chickens. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.19, p. 47-55, 1940.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Method of Analysis**. 18th, ed. Gaithersburg, Maryland, USA, 2005. 1500p.
- BAKER, D.H.; HALPIN, K.M.; CZARNECKI, G.L. C.; PARSONS, M. The choline-methionine interrelationship for growth of the chick. **Poultry Science**, Savoy, v.62, p. 133-137, 1983.
- BAKER, D. H. Problems and pitfalls in animal experiments designed to establish dietary requirements for essential nutrients. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 116, p. 2339-2349, 1986.
- BALDWIN, R.L.; SAINZ, R.D. Energy partitioning and modelling in animal nutrition. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v.15, p.191-211, 1995.
- BERTECHINI, A.G. **Nutrição de Monogástricos**. Lavras: UFLA, 2006. 301p.
- BIYING, C.; RONG, S.; SHENG, D.Y.; YONG, L.C. Determination of choline chloride content. **Asian Poultry Magazine**, Singapore, p. 32-35, 2002.
- BLACK, J.L. The evolution of animal growth models. In: MOUGHAN, P.J.; VERSTEGEN, M.W.A.; VISSER-REYNEVELD, M.I. **Modelling growth in the pig**. Wageningen: Wageningen Press, 1995. cap. 78, p. 3-9.
- BYWATER, A.C. Exploitation of the system approach in technical design of agricultural enterprises. In: JONES, J.G.W.; STREET, P.R. (Ed.). **Systems theory applied to agriculture and food chain**. London: Elsevier Applied Sciences, 1990. cap.3, p. 61-88.
- CARRATO, R.L.P. **Substituição de metionina por cloreto de colina e sulfato de sódio em rações de frangos de corte**. 1985. 52p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1985.
- CHENG, W-L.; HOLMES-McNARY, M.Q.; MAR, M-H.; LIEN, E.L.; ZEISEL, S.H. Bioavailability of choline and choline esters from milk in rat pups. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, New York, v.7, p. 457-464, 1996.
- CLANDININ, D.R.; CRAVENS, W.W.; HALPIN, J.G.; HART, E.B. Supplementary value of methionine, cystine, and choline in a practical soybean oil meal starter ration. **Poultry Science**, Savoy, v.25, p. 509-516, 1946.
- CLASSEN, L.J.; SMIDT, M.J.; PAGORIA, F.; FRITZ, J.C. Choline and methionine requirements of broilers. **Federation Proceedings, Bethesda**, v. 24, p. 500, 1965.

COMBS Jr, G.F. **The Vitamins: fundamental aspects in nutrition and health.** 3rd .ed. San Diego: Academic Press, 2008. 583p.

DERILO, Y.L.; BALNAVE, D. The choline and sulphur amino acid requirements of broiler chickens fed on semi-purified diets. **British Poultry Science**, Colchester, v.21, p.479-487, 1980.

EMMERT, J.L.; GARROW, T.A.; BAKER, D.H. Development of an experimental diet for determining bioavailable choline concentration and its application in studies with soybean lecithin. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, p. 2738-2744, 1996.

EUCLYDES, R.F.; ROSTAGNO, H.S. Estimativa dos níveis nutricionais via experimentos de desempenho. In: WORKSHOP LATINO-AMERICANO AJINOMOTO BIOLATINA, 2001, Foz do Iguaçu. **Anais...** São Paulo: CBNA, 2001. p. 77-88.

FEATHERSTON, W.R.; STEPHENSON, E.L. Dietary interrelationships between methionine, glycine, choline, protein level, and energy content of the chick diet. **Poultry Science**, Savoy, v.39, p. 1023-1029, 1960.

FISHER, C.; MORRIS, T.R.; JENNINGS, R.C. A model for the description and prediction of the response of laying hens to amino acid intake. **British Poultry Science**, Colchester, v. 14, n. 5, p. 469 - 484, 1973.

FRITZ, J.C.; ROBERTS, T.; BOEHNE, J.W. The chick's response to choline and its application to an assay for choline in feedstuffs. **Poultry Science**, Savoy, v.46, p. 1447-1454, 1967.

GARCIA-NETO, M.; PESTI, G.M.; BAKALLI, R.I. Influence of dietary protein level on the broiler chicken's response to methionine and betaine supplements. **Poultry Science**, Savoy, v.79, p. 1478-1484, 2000.

GERRY, R.W.; CARRICK, C.W.; HAUGE, S.M. Methionine and choline in a simplified chick ration. **Poultry Science**, Savoy, v.27, p. 161-168, 1948.

HALVER, E.J. **Fish Nutrition.** San Diego: Academic Press, 1989. 693p.

HASSAN R.A.; ATTIA Y.A., EL-GANZORY E.H. Growth, carcass quality and serum constituents of slow growing chicks as affected by betaine addition to diets containing different levels of choline. **Poultry Science**, Savoy, v. 4, p. 840-850, 2005.

HAUSCHILD, L. **Modelagem individual e em tempo real das Exigências nutricionais de suínos em Crescimento.** 2010. 142p. Tese (Doutorado em Produção animal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2010.

HEGSTED, D.M.; MILLS, R.C.; ELVEHJEM, C.A.; HART, E.B. Choline in the nutrition of chicks. **Journal Biological Chemistry**, Bethesda, v.138, p. 459-465, 1941.

KEBREAB, E.; FRANCE, J.; DARMANI KUHI, H.; LOPEZ, S. A comparative evaluation of functions for partitioning nitrogen and amino acid intake between maintenance and growth in broilers. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 146, p. 163-170, 2008.

KETTUNEN, H.; PEURANEN, S.; TIIHONEN, K.; SAARINEN, M. Intestinal uptake of betaine in vitro, and the distribution of methyl groups from betaine, choline, and methionine in the body of broiler chicks. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Maryland Heights, v. 128, p. 269-278. 2001.

KOC, H.; MAR, M.H.; RANASINGHE, A.; SWENBERG, J.A.; ZEISEL, S.H. Quantitation of choline and its metabolites in tissues and foods by liquid chromatography/electrospray ionization-isotope dilution mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, India, v.74, p. 4734-4740, 2002.

LEESON, S.; SUMMERS, J.D. **Nutrition of the chickens**. 4th .ed. Guelph: University Books, 2001. 591p.

LIPSTEIN, B.; BORNSTEIN, S.; BUDOWSKI, P. Utilization of choline from crude soybean lethicin by chicks. **Poultry Science**, Savoy, v.56, p. 331- 336, 1977.

LOWRY, K.R.; IZQUIERDO, O.A.; BAKER, D.H. Efficacy of betaine relative to choline as a dietary methyl donor. **Poultry Science**, Savoy, v.66, p.135, 1987.

MACARI, M; BERCHIERI JÚNIOR, A. **Doenças das aves**. Campinas: FACTA, 2000. 800p.

MANUAL DE MANEJO FRANGO DE CORTE AGROSS. Rio Claro, 1997. 56p.

MARVEL, J.A.; CARRICK, C.W.; ROBERTS, R.E.; HAUGE, S.M. The supplementary value of choline and methionine in a corn and soybean oil meal chick ration. **Poultry Science**, Savoy, v.23, p. 294-297, 1944.

MEIJERHOF, R. Inovações no processo de incubação: nutrição in-ovo e pós-nascimento. **Hatchtech Tecnologia de Incubação**, São Paulo, 2008. Disponível em: <http://www.hatchtech.nl/html/br/pdf/articles/Inovacoes%20no%20process>. Acesso em: 03 abril 2012.

MENTEN J.F.M.; PESTI, G.M.; BAKALLI, R.I. A new method for determining the availability of choline in soybean meal. **Poultry Science**, Savoy, v.76, p. 1292-1297, 1997.

MERCER, L.P. The quantitative nutrient-response relationship. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v.112, p. 550-566, 1982.

METZLER-ZEBELI, B.U.; EKLUND, M.; MOSENTHIN, R. Impact of osmoregulatory and methyl donor functions of betaine on intestinal health and performance in poultry. **World's Poultry Science Journal**, Cambridge, v.65, p. 419-441, 2009.

MILES, R.D.; RUIZ, N.; HARMS, R.H. The interrelationship between methionine, choline, and sulfate in broiler diets. **Poultry Science**, Savoy, v. 62, p. 495-498, 1983.

MOTILTORIS, B.A.; BAKER, D.H. The choline requirement of broiler chicks during the seventh week of life. **Poultry Science**, Savoy, v.55, p. 220-224, 1976a.

MOLITORIS, B.A.; BAKER, D.H. Assessment of the quantity of biologically available choline in soybean meal. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 42, p. 481-489, 1976b.

MONGIN, P.; SAUVEUR, B. Interrelationships between mineral nutrition, acid-base balance, growth and cartilage abnormalities. **Poultry Science**, Savoy, v.56, p. 235-247, 1977.

MORGAN, P.H.; MERCER, L.P.; FLODIN, N.W. General model for nutritional responses of higher organisms. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, USA, v. 72, p. 4327-4331, 1975.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Poultry**. 8th .ed. Washington: National Academy Press. 1984. 71p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Poultry**. 9th .ed. Washington: National Academy Press, 1994. 176p.

NGO, A.; COON, C.N. The combination level of choline chloride and glycine for optimum chick growth. **Poultry Science**, Savoy, v.53, p. 1961, 1974.

NIELSEN, N.R. **Artificial intelligence, simulation and modelling**. New York: John-Wiley, 1989. 556p.

OVIEDO-RONDÓN, E. O. Modelagem por compartimentos para integrar e comunicar conhecimento em nutrição. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, p.305-313, 2007.

OVIEDO-RONDÓN, E.O.; WALDROUP, P.W. Models to estimate amino acid requirements for broiler chickens: a review. **International Journal of Poultry Science**, Pakistan, v.5, p. 106-113, 2002.

PACK, M. Models used to estimate nutrient requirements with emphasis in economic aspects. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE EXIGÊNCIAS NUTRICIONAIS DE AVES E SUÍNOS. 1996, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, 1996. p. 43-54.

PANIZ, C.; GROTO, D.; SCHMITT, G.C.; VALENTINI, J.; SCHOTT, K.L.; POMBLUM, V.J.; GARCIA, S.C. Fisiopatologia da deficiência de vitamina B12 e seu diagnóstico laboratorial. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v.41, p. 323-34, 2005.

PESTI, G.M.; HARPER, A.E.; SUNDE, M.L. Choline/Methionine nutrition of starting broiler chicks. Three models for estimating the choline requirement with economic considerations. **Poultry Science**, Savoy, v.59, p. 1073-1081, 1980.

POMPEU, M.A. **Níveis de suplementação de colina em dietas para frangos de corte machos**. 2010. 31p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

POURREZA, J.; SMITH, W. Performance of laying hens fed on low sulphur amino acids diets supplemented with choline and methionine. **British Poultry Science**, Colchester, v. 29, p. 605 -611, 1988.

QUILLIN, E.C.; COMBS, G.F.; CREEK, R. D. ROMOSER, G. L. Effect of choline on the methionine requirements of broiler chickens. **Poultry Science**, Savoy, v.40, p. 639-645, 1961.

REGAZZI, A. J. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelos de regressão não-linear. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 50, p. 9-26, 2003.

REPETTO, M.G.; OSSANI, G.; MONSERRAT, A.J.; BOVERIS, A. Oxidative damage: The biochemical mechanism of cellular injury and necrosis in choline deficiency. **Experimental and Molecular Pathology**, Maryland Heights, v. 88, p.143-149, 2010.

REZENDE, D.M.L.C.; MUNIZ, J.A.; FERREIRA, D.F.; SILVA, F.F.; AQUINO, L.H. Ajuste de modelos de platô de resposta para a exigência de zinco em frangos de corte. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 468-478, 2007.

ROBBINS, K.R.; SAXTON, A.M.; SOUTHERN, L.L. Estimation of nutrient requirements using broken-line regression analysis. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 155-165, 2006.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 1. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 141p.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. 186p.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L.; GOMES, P.C.; OLIVEIRA, R.F.; LOPES, D.C.; FERREIRA, A.S.; BARRETO, S.L.T.; EUCLIDES, R. F. **Tabelas brasileiras para aves e suínos**: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 252p.

ROTHEMBERG, J. The nature of modelling. In: WIDMAN, L.E.; LOPARO, K.A.; NIELSEN, N.R. **Artificial intelligence, simulation and modelling**. New York: John-Wiley, 1989. cap. 3, p.75-92.

SAKOMURA, N.K.; ROSTAGNO, H.S. **Métodos de Pesquisa em Nutrição de Monogástricos**. Jaboticabal: Funep, 2007. 283p.

SAS INSTITUTE. **Statistical Analysis System**: user's guide. Version 9.2 ed. Cary, 2010.

SAUNDERSON, C.L.; MACKINLAY, J. Changes in body-weight, composition and hepatic enzyme activities in response to dietary methionine, betaine and choline levels in growing chicks. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v.63, p. 339-349, 1990.

SIQUEIRA, J.C.; SAKOMURA, N.K.; NASCIMENTO, D.C.N.; FERNANDES, J.B. K. Modelos matemáticos para estimar as exigências de lisina digestível para aves de corte ISA Label. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.38, p. 1732-1737, 2009.

SLINGER, S.J.; PEPPER, W.F.; SUMMERS, J.D. Sparing action between methionine, choline and vitamin B-12 in chicks and hens. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v. 50, n. 3, p. 693-703, 1970.

STRYER, L. **Biochemistry**. 3rd .ed. New York: W.H. Freeman, 1988. 1089p.

SUNDE, M.L.; WAIBEL, P.E.; CRAVENS, W.W.; ELVEHEM, C.A. A relationship between antibiotics, vitamin B12, and choline and methionine in chick growth. **Poultry Science**, Savoy, v.30, p. 668-671, 1951.

SWAIN, B.K.; JOHRI, T.S. Effect of supplemental methionine, choline and their combinations on the performance and immune response of broilers. **British Poultry Science**, Colchester, v.41, p. 83-88, 2000.

THORNLEY, J.H.M. **Grassland dynamics**: an ecosystems simulation model. New York: CAB International, 1996. 241p.

THORNLEY, J.H.M.; FRANCE, J. **Mathematical models in agriculture**: Quantitative methods for the plant, animal and ecological sciences. 2nd .ed. Wallingford: CABI Publishing, 2006. 906p.

TILLMAN, P.B.; PESTI, G.M. The response of male broiler chicks to a corn-soy diet supplemented with L-methionine, L-cystine, choline, sulfate, and vitamin B12. **Poultry Science**, Savoy, v.65, p. 1741-1748, 1986.

TSIAGBE, V.K.; COOK, M.E.; HARPER, A.E.; SUNDE, M.L. Enhanced immune response in broiler chicks fed methionine supplemented diets. **Poultry Science**, Savoy, v.66, p. 1147, 1987.

USDA Database for Choline Content of Common Foods (2008), North Carolina, 2008. Disponível em:
<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/Choline/Choln02.pdf>. Acesso em: 10 março 2012.

VIANA, M.T.S.; ALBINO, L.F.T.; ROSTAGNO, H.S.; BARRETO, S.L.T.; CARVALHO, D.C.O.; GOMES, P.C. Fontes e níveis de metionina em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 38, n. 9, p. 1751-1756, 2009.

WALDROUP, P.W.; MOTL, M.A.; YAN, F.; FRITTS, C.A. Effects of Betaine and Choline on Response to Methionine Supplementation to Broiler Diets Formulated to Industry Standards. **Journal of Applied Poultry Research**, Champaign, v. 15, p. 58-71, 2006.

WARE, G.O.; PHILLIPS, R.D.; PARRISH, R.S.; MOON, L.C. A comparison of two nonlinear models for describing intake-response relationships in higher organisms. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 110, p. 765-770, 1980.

WEST, J.W.; CARRICK, C.W.; HAUGE, S.M.; MERTZ, E.T. The relationship of choline and cystine to the methionine requirement of young chickens. **Poultry Science**, Savoy, v.30, p. 880-885, 1951.

YANCEY, P.H.; CLARK, M.E.; HANDS, S.C.; BOWLUS, R.D.; SOMERO, G.N. Living with water stress: Evolution of osmolyte systems. **Science**, Washington, v.217, p. 1214-1222, 1982.

ZEISEL, S.H. Dietary choline:biochemistry, physiology, and pharmacology. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v.1, p. 95-121, 1981.