

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Efeito da suplementação com N-carbamilglutamato na dieta de leitões
desmamados dos 21 aos 50 dias de idade**

Pedro Vieira Monteiro
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2026**

PEDRO VIEIRA MONTEIRO

**Efeito da suplementação com N-carbamilglutamato na dieta de leitões
desmamados dos 21 aos 50 dias de idade**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Alysson Saraiva

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M775e Monteiro, Pedro Vieira, 2001-
2026 Efeito da suplementação com N-carbamilglutamato na dieta de leitões desmamados dos 21 aos 50 dias de idade / Pedro Vieira Monteiro. – Viçosa, MG, 2026.
1 dissertação eletrônica (33 f.): il.

Inclui anexo.

Inclui apêndices.

Orientador: Alysson Saraiva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia, 2026.

Referências bibliográficas: f. 22-26.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2026.504>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Suínos - Alimentação e rações. I. Saraiva, Alysson, 1975-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.
III. Título.

CDD 22. ed. 636.40852

PEDRO VIEIRA MONTEIRO

**Efeito da suplementação com N-carbamilglutamato na dieta de leitões
desmamados dos 21 aos 50 dias de idade**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 31 de julho de 2026.

Assentimento:

Pedro Vieira Monteiro
Autor

Alysson Saraiva
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pelo autor em 31/08/2026 às 07:30:25 e pelo orientador em 11/09/2026 às 15:50:36. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **Y2DP.R7AX.THNJ** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meus agradecimentos a Deus, pela oportunidade de estudar e por iluminar os meus caminhos.

Agradeço aos meus pais, Danusa e Wagner, pelos ensinamentos, apoio e bons exemplos recebidos. Ao meu irmão Arthur por todo o companheirismo durante esta trajetória.

A toda a minha família, pelas orações recebidas e bons conselhos.

Aos bons amigos e companheiros que fiz em Viçosa durante esses anos.

Aos meus amigos de equipe, Carol, Gustavo, Bianca e Maria, por todos os ensinamentos, ajuda e incentivos recebidos.

Aos estagiários da UEPE Suinocultura, que colaboraram com a execução da pesquisa, junto aos colaboradores, Valdeir, José Alberto, Leandro, Arlindo e Fernando.

Ao meu orientador, professor Alysson, por todo o apoio e pela oportunidade conferida a mim.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

*Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus,
estará contigo por onde você andar.*

Josué 1:9

RESUMO

MONTEIRO, Pedro Vieira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2026. **Efeito da suplementação com N-carbamilglutamato na dieta de leitões desmamados dos 21 aos 50 dias de idade.** Orientador: Alysson Saraiva.

Durante o período pós-desmame, os leitões enfrentam desafios nutricionais e fisiológicos, associados à nova dieta e à imaturidade do trato gastrointestinal. Nesse contexto, a capacidade de síntese endógena de arginina pode ser insuficiente para atender as exigências nutricionais dessa fase, tornando a suplementação de N-Carbamilglutamato (NCG) uma estratégia para estimular sua síntese endógena. Um total de 120 leitões, machos castrados e fêmeas, desmamados aos 21 dias, foram distribuídos em delineamento em blocos (peso inicial) casualizados, em quatro dietas, com dez repetições e três animais por unidade experimental. As dietas consistiram em uma dieta controle (CON), e mais três dietas obtidas com a suplementação de 0,05, 0,10 e 0,15% de NCG. A suplementação com NCG durante o período de 21 a 35 dias aumentou de forma linear o consumo de ração médio diário ($P < 0,01$), o ganho de peso médio diário ($P < 0,01$) e o peso médio final ($P < 0,01$), além de reduzir de forma linear a conversão alimentar ($P = 0,04$). Dos 21 aos 50 dias de idade, o peso médio final ($P = 0,02$), o consumo de ração diário ($P < 0,01$) e o ganho de peso diário ($P = 0,02$) aumentaram de forma quadrática, até o nível de 0,1% de NCG. No duodeno, foi observada tendência de aumento linear da altura de vilosidades ($P = 0,08$), redução quadrática da profundidade de criptas ($P = 0,01$), além do aumento quadrático na relação vilo:cripta ($P = 0,02$). No jejuno, observou-se tendência de aumento quadrático da altura de vilosidades ($P = 0,08$), além de aumento linear da relação vilo:cripta ($P = 0,03$) e na redução da profundidade de criptas ($P = 0,05$). Foi observado o aumento linear da expressão de mRNA de OCL ($P = 0,02$) e tendência de redução linear da expressão de TNF- ($P = 0,10$). A expressão de mRNA de IL-1 aumentou de forma quadrática ($P = 0,04$), até o nível estimado de 0,1% de NCG. A suplementação com 0,1% de NCG melhora o desempenho, a morfologia e integridade intestinal e atenua a resposta inflamatória de leitões desmamados.

Palavras-chave: leitões ; n-carbamilglutamato; nutrição

ABSTRACT

MONTEIRO, Pedro Vieira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2026. **Effect of N-carbamylglutamate supplementation in the diet of weaned piglets from 21 to 50 days of age.** Adviser: Alysson Saraiva.

During the post-weaning period, piglets face nutritional and physiological challenges associated with the new diet and the immaturity of the gastrointestinal tract. In this context, the endogenous capacity for arginine synthesis may be insufficient to meet the nutritional requirements of this phase, making N-carbamoylglutamate (NCG) supplementation a strategy to stimulate its endogenous synthesis. A total of 120 piglets, castrated males and females, weaned at 21 days of age, were distributed in a randomized block design (initial body weight), into four diets, with ten replicates and three animals per experimental unit. The diets consisted of a control diet (CON), and three additional diets obtained by supplementing 0.05, 0.10, and 0.15% NCG. NCG supplementation from 21 to 35 days of age linearly increased average daily feed intake ($P < 0.01$), average daily gain ($P < 0.01$), and average final body weight ($P < 0.01$), in addition to linearly reducing feed conversion ratio ($P = 0.04$). From 21 to 50 days of age, average final body weight ($P = 0.02$), daily feed intake ($P < 0.01$), and daily weight gain ($P = 0.02$) increased quadratically, up to the level of 0.1% NCG. In the duodenum, a tendency for a linear increase in villus height ($P = 0.08$), a quadratic reduction in crypt depth ($P = 0.01$), and a quadratic increase in the villus-to-crypt ratio ($P = 0.02$) were observed. In the jejunum, a tendency for a quadratic increase in villus height ($P = 0.08$) was observed, in addition to a linear increase in the villus-to-crypt ratio ($P = 0.03$) and a reduction in crypt depth ($P = 0.05$). A linear increase in OCL mRNA expression ($P = 0.02$) and a tendency for a linear reduction in TNF-expression ($P = 0.10$) were observed. IL-1 mRNA expression increased quadratically ($P = 0.04$), up to the estimated level of 0.1% NCG. Supplementation with 0.1% NCG improves performance, intestinal morphology and integrity, and attenuates the inflammatory response in weaned piglets.

Keywords: n-carbamylglutamate; nutrition; piglets

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das dietas experimentais dos 21 a 35 dias de idade.	27
Tabela 2. Composição das dietas experimentais dos 36 aos 50 dias de idade.	28
Tabela 3. Primers utilizados na expressão gênica	29
Tabela 4. Desempenho dos 21 aos 35 dias de idade.....	30
Tabela 5. Desempenho dos 21 aos 50 dias de idade.....	30
Tabela 6. Escore fecal e incidência de diarreia dos 21 aos 35 dias de idade.....	31
Tabela 7. Morfologia intestinal	29
Tabela 8. Marcadores de estresse oxidativo	32
Tabela 9. Expressão gênica	32

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
2.1 Animais, delineamento experimental e dietas.....	10
2.2 Escore fecal e incidência de diarreia	11
2.3 Coleta de sangue e de tecido intestinal	11
2.4 Marcadores de estresse oxidativo.....	12
2.5 Morfologia intestinal.....	12
2.6 Amostras para análise de expressão gênica	12
2.7 Análise estatística.....	13
3. RESULTADOS.....	13
3.1 Desempenho, escore fecal e incidência de diarreia.....	13
3.2 Morfologia intestinal.....	14
3.3 Marcadores de estresse oxidativo.....	14
4. DISCUSSÃO	15
5. CONCLUSÃO	22
6. REFERÊNCIAS	22
7. TABELAS	27
8. ANEXOS	33

1. INTRODUÇÃO

O período pós desmame pode ser considerado um dos mais desafiadores na produção de suínos. As mudanças ambientais, nutricionais, sociais e de manejo que os leitões são submetidos, impõem uma condição de elevado estresse, resultando em impactos na saúde intestinal, no metabolismo e no desempenho dos animais (Zhang et al., 2013).

Nesse período, o trato gastrointestinal apresenta uma menor capacidade de digestão e absorção dos nutrientes da ração, em razão da atrofia de vilosidades e da diminuição da relação vilo:cripta, favorecendo a fermentação de frações proteicas em segmentos distais do intestino e disbiose (Pluske, 2016). Além disso, o aumento da permeabilidade intestinal e o comprometimento da função de barreira facilitam a passagem de bactérias do lúmen intestinal para a circulação sanguínea, aumentando a suscetibilidade a infecções, principalmente entéricas, resultando em diarreia (Hu et al., 2023). O período pós desmame também está relacionado ao aumento do estresse oxidativo, em virtude do desequilíbrio entre a produção e a remoção de espécies reativas de oxigênio, prejudicando a renovação epitelial e a função de barreira intestinal, bem como sua atividade proteora e imunológica (Wu et al., 2010, Zhang et al., 2018).

Diante desse cenário, a adoção de estratégias nutricionais capazes de minimizar os efeitos negativos do desmame tem despertado crescente interesse, principalmente estratégias relacionadas à modulação da resposta inflamatória, da função e saúde intestinal e da melhora do desempenho (Mou et al., 2019). Dentre essas estratégias, a suplementação com o N-carbamilglutamato (NCG) vêm se destacando.

O NCG é um análogo funcional do N-acetilglutamato (NAG), configurando-se como uma estratégia nutricional promissora para aumentar a síntese de arginina durante o período pós-desmame. O NCG é capaz de atuar como um ativador da enzima CPS-1, resultando em maior síntese e disponibilidade deste aminoácido para os processos celulares (Hu et al., 2023). Estudos anteriores, demonstraram que a suplementação com NCG pode melhorar o desempenho, a morfologia e integridade intestinal, além de modular as respostas antioxidantes e anti-inflamatórias em leitões (Hu et al., 2023; Zhang et al., 2013).

Embora os suínos sejam capazes de sintetizar arginina, este aminoácido é considerado condicionalmente essencial no período pós desmame e nas fases iniciais de crescimento, uma vez que a síntese endógena não é suficiente para atender as necessidades nutricionais (Marini et al., 2017). A suplementação de arginina para suínos de diferentes idades é estudada, no

entanto, apesar de seus resultados promissores, a utilização na nutrição de leitões apresenta algumas limitações, incluindo o alto custo de suplementação, a competição por transportadores de aminoácidos e a alta taxa de degradação microbiana no trato gastrointestinal (Li et al., 2023, Palencia et al., 2018). Diante das limitações associadas à suplementação de arginina e da reduzida capacidade de síntese por leitões jovens, a suplementação de precursores de sua síntese endógena, como o NCG, pode se tornar relevante. Entretanto, a comparação dos efeitos entre diferentes níveis de suplementação para leitões ainda não está bem estabelecida na literatura.

Desse modo, hipotetiza-se que a suplementação com NCG pode melhorar a morfologia e a integridade intestinal, reduzir a incidência de diarreia, modular a resposta inflamatória e antioxidante e consequentemente melhorar o desempenho de leitões desmamados aos 21 dias de idade, e tem como objetivos avaliar os efeitos da suplementação com diferentes níveis de NCG, durante o período de 21 aos 50 dias de idade, sobre o desempenho, a incidência de diarreia, a morfologia e integridade intestinal, a função antioxidante e a expressão de citocinas inflamatórias.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os métodos envolvendo o manejo de suínos seguiram os princípios éticos da pesquisa animal (CONCEA) e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção (CEUAP) da Universidade Federal de Viçosa (Protocolo nº 036/2025) (Anexo 1).

2.1 Animais, delineamento experimental e dietas

Um total de 120 leitões, híbridos comerciais, machos castrados e fêmeas, desmamados aos 21 dias de idade, com peso médio de $6,72 \text{ kg} \pm 0,76 \text{ kg}$, foram distribuídos em delineamento experimental em blocos casualizados, em quatro dietas, com dez repetições e três animais por unidade experimental, representada pela baia. O peso inicial foi levado em consideração na formação dos blocos. As dietas consistiram em: controle (CON, dieta basal), CON + 0,05% de NCG (NCG1), CON + 0,1% de NCG (NCG2), CON + 0,15% de NCG (NCG3). A dieta CON (Tabelas 1 e 2), foi formulada para atender as exigências nutricionais dos leitões durante as duas fases do experimento (21 aos 35 e 36 aos 50 dias de idade), conforme as recomendações de Rostagno et al. (2024).

Os leitões foram alojados em gaiolas metálicas, com piso ripado de plástico, equipadas com comedouros semiautomáticos e bebedouros tipo *nipple*, localizadas em salas de creche, nas quais a temperatura foi mantida dentro da zona termoneutra para leitões desmamados

durante o período experimental, por meio de aquecedores elétricos (Agrocere PIC, 2021). A temperatura ambiente média foi de $26,5 \pm 1,45$ °C e as temperaturas mínima e máxima foram de $24,30 \pm 1,13$ e de $28,70 \pm 1,34$ °C, respectivamente.

Os leitões tiveram livre acesso à ração e água durante todo o período experimental (21 a 50 dias de idade). Durante o experimento, a ração foi pesada antes do fornecimento e o desperdício de ração, e as sobras foram coletadas e pesadas diariamente para determinar o consumo de ração médio diário (CRD). Os leitões foram pesados individualmente nos dias 0, 14 e 29 do período experimental, para determinar o peso corporal final (PMF), o ganho de peso médio diário (GPD) e a conversão alimentar (CA).

2.2 Escore fecal e incidência de diarreia

O escore fecal de cada leitão foi visualmente avaliado em cada manhã por um único observador, durante a primeira fase do período experimental, dos 21 aos 35 dias de idade, por meio da metodologia descrita por Liu et al. (2010). As fezes frescas foram pontuadas de acordo com a característica física, utilizando uma escala de 1 a 4, sendo: 1 = sólida; 2 = semissólida; 3 = semilíquida; 4 = líquida. A ocorrência de diarreia foi definida pela produção de fezes com escore 3 ou 4 por 2 dias consecutivos. A incidência de diarreia foi calculada por meio da fórmula: Incidência de diarreia (%) = (número de leitões com diarreia em cada baixa x dias com diarreia) / (3 leitões x 14 dias) x 100.

2.3 Coleta de sangue e de tecido intestinal

Aos 35 dias de idade, um leitão de cada baia, com peso corporal mais próximo da média de sua respectiva baia, foi selecionado para coleta de sangue por punção do seio orbital em tubos contendo ativador de coágulo para obtenção de soro. Uma hora após a coleta, as amostras de sangue foram centrifugadas a $3.500 \times g$ por 10 minutos para a separação do soro. O soro foi transferido para microtubos de 1,5 ml e armazenado a -20°C até posterior análise.

Posteriormente, o mesmo leitão foi insensibilizado e abatido por sangramento, para a coleta de amostras histológicas. Segmentos de 2 x 2 cm de intestino foram coletadas, correspondente aos segmentos de duodeno (10 cm do piloro), jejuno (porção medial) e íleo (5 cm da junção ileocecal), de acordo com a metodologia descrita por Yang et al. (2014). Os segmentos foram lavados com solução fisiológica e fixados em solução de paraformaldeído a 4,0% durante 24 horas em temperatura ambiente.

2.4 Marcadores de estresse oxidativo

A atividade das enzimas antioxidantes foi avaliada a partir de uma alíquota do soro. Foram avaliadas as atividades das enzimas: superóxido dismutase (SOD), e catalase (CAT), bem como a capacidade antioxidante total, por meio da técnica de mensuração FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Além disso, os níveis de óxido nítrico (NO) foram mensurados. A peroxidação lipídica foi avaliada analisando os níveis de malondialdeído (MDA). A oxidação de aminoácidos e degradação proteica foi determinada pela proteína carbonilada (PC). A atividade de CAT foi determinada pela taxa de decomposição do H₂O₂ medida no tempo 0,3 e 60 segundos, tendo sua atividade expressa por CAT U/miligramas de proteína. A atividade da enzima SOD foi avaliada pelo método do pirogalol, avaliando a capacidade dessa enzima de catalisar a reação do ânion superóxido com o peróxido de hidrogênio. O FRAP foi determinado com base na redução de Fe³⁺ a Fe²⁺ no soro por antioxidantes não enzimáticos, sendo expresso em mmol Fe²⁺/mL. As concentrações de óxido nítrico foram determinadas indiretamente pela quantificação dos níveis de nitrito e nitrato, usando o método Greiss (Tsikas, 2007). O MDA foi determinado utilizando a solução TBARS, segundo Jentzsch et al. (1996), a leitura da placa foi realizada a 535 nm, sendo os resultados expressos em µmol/mL. A proteína carbonilada foi determinada de acordo com a metodologia de Levine et al. (1990), com a leitura da placa realizada a 370 nm e resultados expressos em nmol/mL. Os dados foram normalizados por meio da concentração de proteínas total.

2.5 Morfologia intestinal

Os segmentos intestinais (duodeno, jejuno e íleo) foram cortados transversalmente e secos em gradientes etílicos crescentes, diafinizadas em *HistoChoice*[®] e embebidas em *Paraplast*[®] a 65°C. Quatro cortes transversais de 5 µm de espessura foram colocados por lâmina e em seguida corados com hematoxilina e eosina. Para a leitura e fotografia das lâminas foi usado um microscópio ótico EVOS M5000 *Imaging System* (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific) com aumento de 10x. Posteriormente, as imagens foram analisadas via *software* Image J. 50i, java1.6.0_20 (National Institutes of Health). Foram feitas as mensurações da altura de 20 vilosidades e suas respectivas cripta. A relação vilo: cripta (V:C) foi obtida pela razão entre as mensurações.

2.6 Amostras para análise de expressão gênica

Para coletar amostras de jejuno para expressão gênica, os instrumentos que entraram em contato com o tecido foram higienizados com álcool 70°C, secos com papel-toalha e

pulverizados com solução de RNase entre cada coleta. A porção do jejuno coletada foi lavada com solução salina estéril para remoção do digesta em contato com o tecido e armazenada em criotubos de 1,8 mL. As amostras foram então imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -80°C para posterior análise. O RNA total foi extraído usando TRIzol® (Invitrogen™) segundo as instruções do fabricante. A concentração de RNA foi estimada pelo NanoDrop™ Lite (Thermo Fisher Scientific) e a integridade do RNA foi avaliada por meio da eletroforese em gel de agarose a 1%. A síntese do DNA completar foi realizada de acordo com o protocolo do GoScript™ Reverse Transcription System protocol (Promega Corporation). A sequência dos primers e o número de acesso no GenBank estão listados na Tabela 3.

Os primers foram usados para a técnica de PCR quantitativa de transcrição reversa com GoTaq qPCR Master Mix (Promega) no QuantStudio® 3 (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific). As médias geométricas dos valores de Ct de ACTB foram utilizadas para normalizar a expressão dos genes-alvo nas amostras de jejuno. A expressão relativa do gene de interesse foi calculada pelo método $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ (Livak e Schmittgen, 2001).

2.7 Análise estatística

A baía foi considerada a unidade experimental para as variáveis de desempenho, escore fecal e incidência de diarreia. Um leitão abatido aos 14 dias foi considerado a unidade experimental para as análises de expressão gênica, morfologia intestinal e de marcadores de estresse oxidativo. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o pacote ExpDes.pt do Software R Core Team (2020), versão 4.1.0. Os dados foram submetidos a análise de variância conforme o delineamento experimental adotado. Contrastes polinomiais lineares e quadráticos foram usados para a determinação do nível ideal da suplementação de NCG sobre cada uma das variáveis analisadas, considerando os níveis de inclusão como variável quantitativa. O coeficiente de determinação (R^2) foi utilizado para avaliar o ajuste dos modelos de regressão. Diferenças foram consideradas significativas quando $P \leq 0,05$ e tendências quando $0,05 < P \leq 0,10$.

3. RESULTADOS

3.1 Desempenho, escore fecal e incidência de diarreia

Durante o período de 21 aos 35 dias de idade, foram observados aumentos lineares do CRD ($P < 0,01$), do GPD ($P < 0,01$) e do PMF ($P < 0,01$) com o aumento dos níveis de NCG

das dietas. De forma contrária, a conversão alimentar (CA) reduziu de forma linear ($P = 0,04$), com o aumento dos níveis de suplementação (Tabela 4).

Durante o período de 21 aos 50 dias de idade, o PMF aumentou de forma quadrática ($P = 0,02$) até o nível estimado de 0,097% de NCG, de acordo com a equação $Y_{PMF} = 15,95 + 2,73 \cdot NCG - 14,02 \cdot NCG^2$ ($R^2 = 0,99$, Figura 1). De forma semelhante, o CRD e o GPD dos leitões também aumentaram de forma quadrática ($P < 0,01$ e $P = 0,02$, respectivamente) até os níveis estimados de 0,096 e 0,10%, respectivamente, de acordo com as equações $Y_{CRD} = 0,462 + 0,11 \cdot NCG - 0,57 \cdot NCG^2$ ($R^2 = 0,95$, Figura 2) e $Y_{GPD} = 0,33 + 0,10 \cdot NCG - 0,49 \cdot NCG^2$ ($R^2 = 0,99$, Figura 3). A conversão alimentar não foi influenciada ($P > 0,05$) pela suplementação dietética de NCG (Tabela 5).

Não houve efeito ($P > 0,05$) da suplementação com NCG sobre o escore fecal e a incidência de diarreia entre os 21 e 35 dias de idade (Tabela 6).

3.2 Morfologia intestinal

No duodeno, foi observado tendência de aumento linear ($P = 0,08$) da altura de vilosidades, com o aumento da inclusão de NCG nas dietas. A profundidade de criptas reduziu de forma quadrática ($P = 0,01$) até o nível estimado de 0,064% de NCG, de acordo com a equação $Y_{PCD} = 193,07 + 73,42 \cdot NCG - 571,90 \cdot NCG^2$ ($R^2 = 0,86$). De forma semelhante, foi observado o aumento quadrático ($P = 0,02$) na relação vilo:cripta no duodeno até o nível estimado de 0,050% de NCG, de acordo com a equação $Y_{VCD} = 0,10 - 0,34 \cdot NCG - 3,40 \cdot NCG^2$ ($R^2 = 0,98$).

De forma similar, no jejuno, foi observada tendência de aumento quadrático na altura de vilosidades ($P = 0,08$) até o nível estimado de 0,094% de NCG, de acordo com a equação $Y_{AVJ} = 148,866 + 64,13 \cdot NCG - 339,20 \cdot NCG^2$ ($R^2 = 0,86$). A relação V:C aumentou de forma linear ($P = 0,03$) com o aumento dos níveis de NCG. De forma contrária, a profundidade de criptas reduziu de forma linear ($P = 0,05$) com o aumento do nível de NCG nas dietas.

No segmento do íleo, não foram observadas diferenças morfológicas ($P > 0,05$) entre as dietas (Tabela 7).

3.3 Marcadores de estresse oxidativo

A suplementação com NCG não alterou ($P > 0,05$) as concentrações de proteína carbonilada (PC), malondialdeído (MDA), óxido nítrico (NO) e nem a capacidade antioxidante

total (FRAP). Da mesma forma, não foram observadas alterações ($P > 0,05$) na atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) (Tabela 8).

3.4 Expressão gênica

A suplementação com NCG promoveu aumento linear da expressão de mRNA de OCL ($P = 0,02$). De forma diferente, a expressão de IL-1 β aumentou de forma quadrática ($P = 0,04$), até o nível estimado de 0,1% de NCG, de acordo com a equação $Y_{IL-1\beta} = 0,93 + 1,73 \cdot NCG - 8,76 \cdot NCG^2$ ($R^2 = 0,82$). Além disso, foi observada tendência de redução linear da expressão de TNF- α ($P = 0,10$), com o aumento dos níveis de NCG. Os genes CLA, ZO-1 e IL-10, não apresentaram diferenças ($P > 0,05$) na expressão de mRNA em resposta à suplementação com NCG (Tabela 9).

4. DISCUSSÃO

A fase pós-desmame é marcada por um período de estresse, decorrente de mudanças abruptas na dieta, no ambiente e no manejo dos leitões. Essas mudanças resultam em alterações no funcionamento do sistema imune e também na morfologia e função intestinal, comprometendo o crescimento e o desempenho produtivo (Arnaud et al., 2023; Upadhaya et al., 2021). Adicionalmente, nessa fase, a síntese de arginina é insuficiente para atender a demanda nutricional, tornando esse aminoácido limitante (Marini et al., 2017). Nesse contexto, a suplementação com NCG representa uma estratégia nutricional promissora, por estimular a síntese endógena de arginina por meio da ativação da CPS-1 e aumentar sua disponibilidade para processos relacionados ao crescimento tecidual, resposta imune e manutenção da integridade intestinal (Wang et al., 2022).

No presente estudo, a suplementação com 0,15% de NCG durante as 2 primeiras semanas após o desmame resultou em maior PMF, GPD e CRD, bem como melhor conversão alimentar. Durante o período total (21 aos 50 dias), o PMF, GMD e o CRD aumentaram de forma quadrática, com a suplementação de NCG. Os efeitos positivos observados sobre o desempenho podem ser atribuídos ao maior estímulo para a síntese proteica. A maior disponibilidade de arginina favorece a ativação da via mTOR, especialmente do complexo mTORC1, relacionado à regulação da síntese proteica, da hipertrofia do tecido muscular e do crescimento dos tecidos (Long et al., 2025; Yao et al., 2011). A ativação dessa via estimula a fosforilação de proteínas envolvidas na iniciação da tradução, aumentando a síntese de proteínas e a deposição de tecido

muscular (Long et al., 2025; Yao et al., 2011), resultando em maior GPD e maior PMF dos animais suplementados com NCG. Yang et al. (2013), observaram que a suplementação de 0,1% de NCG na dieta de leitões desmamados reduziu as concentrações plasmáticas de amônia e nitrogênio ureico sérico, marcadores do metabolismo do nitrogênio. De forma relacionada, Long et al. (2025) demonstraram que a suplementação com arginina é eficiente para aumentar a secreção e os níveis plasmáticos de hormônios anabólicos, como insulina, GH e IGF-1, relacionados ao aumento da síntese proteica e ao crescimento do tecido muscular esquelético, e promovem o aumento do peso médio final e do ganho de peso médio diário de leitões. Esses resultados indicam maior eficiência na utilização dos aminoácidos, e um metabolismo com menor degradação proteica e maior retenção de nitrogênio para a síntese de proteínas, mecanismos que podem explicar a melhora da conversão alimentar observada no presente estudo. Além disso, a redução dos níveis de amônia diminui gastos energéticos associados à sua detoxificação pelo ciclo da ureia, dessa forma, há maior disponibilidade de energia para processos relacionados ao crescimento corporal, contribuindo para a melhora do desempenho (Long et al., 2025).

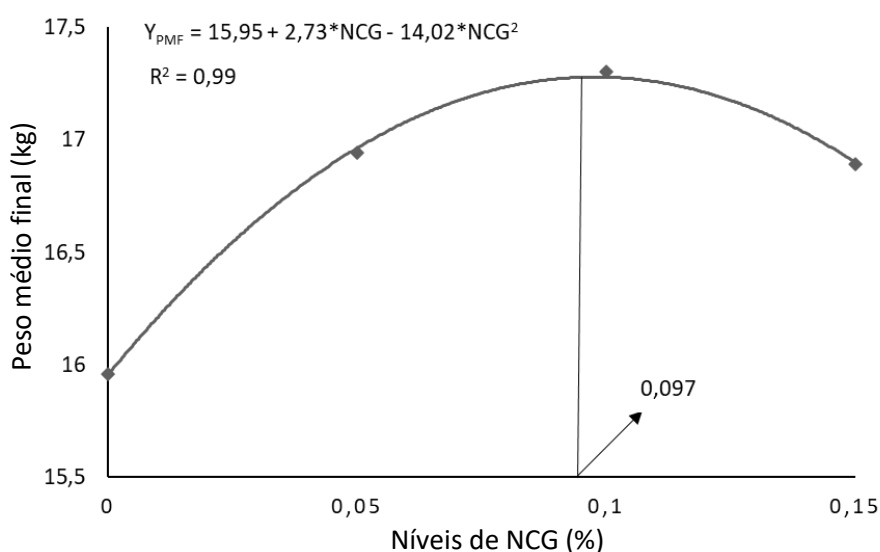


Figura 1 – Peso médio final de leitões dos 21 aos 50 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com NCG.

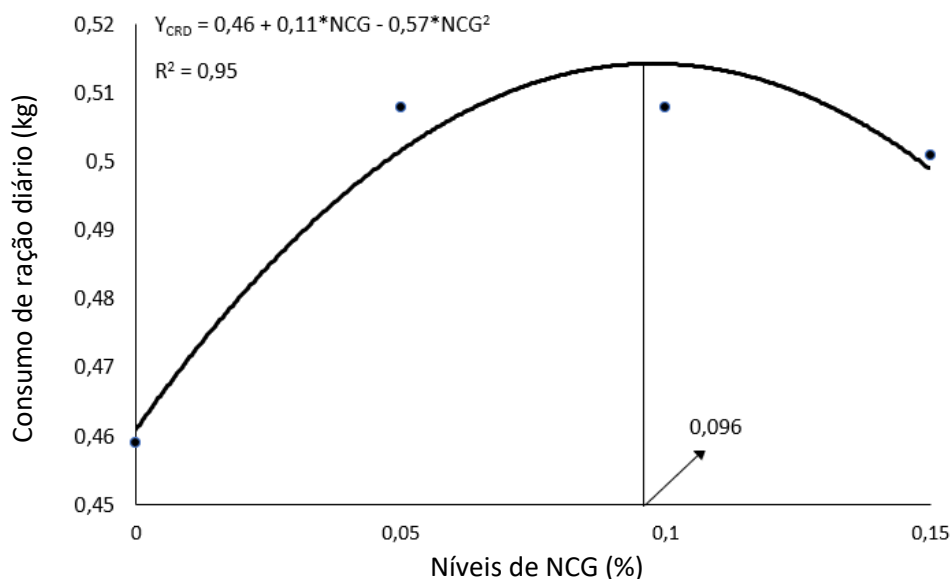


Figura 2 – Consumo de ração diária de leitões dos 21 aos 50 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com NCG.

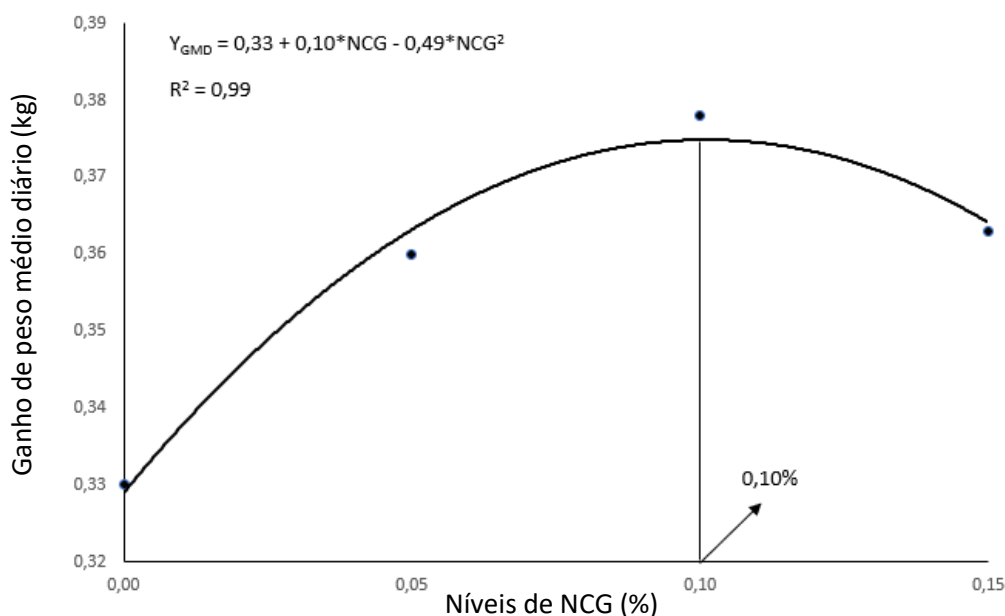


Figura 3 – Ganho de peso diário de leitões dos 21 aos 50 dias de idade alimentados com dietas suplementadas com NCG.

As alterações observadas na morfologia intestinal, incluindo o aumento da altura das vilosidades, a redução da profundidade das criptas e a melhoria da relação vilo:cripta no duodeno e jejuno, indicam melhora da morfologia intestinal a partir da suplementação com NCG. Adicionalmente, sugerem uma ação do NCG na manutenção da integridade da barreira intestinal, uma vez que, vilosidades mais desenvolvidas estão correlacionadas com uma barreira intestinal mais funcional. Resultados similares foram observados por Hu et al. (2023), que

suplementaram leitões desmamados com 0,05% de NCG e verificaram o aumento da altura das vilosidades, da relação vilo:cripta no jejuno e da expressão gênica de proteínas de junção estreita, envolvidas na manutenção e preservação da barreira intestinal.

Estes efeitos podem ser resultado de maiores níveis de NO, capaz de melhorar a perfusão sanguínea, aumentando o aporte de oxigênio e nutrientes para os enterócitos e favorecendo o desenvolvimento e manutenção da mucosa intestinal. Além disso, ao favorecer a captação de glicose e a lipólise nos tecidos, pode aumentar a disponibilidade de energia para o crescimento tecidual e estimular a renovação celular intestinal (Zhang et al., 2021; Li et al., 2024). De forma complementar, as poliaminas produzidas pelo metabolismo da arginina estimulam a proliferação celular e reduzem a atrofia de vilosidades induzida pelo estresse pós-desmame, colaborando para a manutenção da morfologia, função e permeabilidade intestinal (Luise et al., 2023). A melhor função e desenvolvimento intestinal estão associadas com a maior capacidade de digestão e absorção de nutrientes em decorrência da maior área de contato dos nutrientes com mucosa e da maior secreção enzimática (Tang et al., 2022), colaborando para os resultados encontrados de maior GPD, PMF e melhor CA entre os 21 aos 35 dias e maior GPD e PMF dos 21 aos 50 dias.

Além disso, outro efeito relacionado à melhora da morfologia intestinal corresponde ao efeito poupador de nutrientes obtido com a redução da profundidade de criptas. O *turnover* epitelial intestinal constitui um processo de elevado custo energético e proteico, que limita a disponibilidade de nutrientes para o crescimento tecidual, uma vez que uma parcela elevada desses recursos é direcionada à renovação epitelial (Luise et al., 2023). Nesse contexto, a redução da profundidade de criptas pode indicar um menor grau de morte e renovação precoce dos enterócitos e por consequência, menor gasto de nutrientes para a manutenção epitelial, que podem ser usados para o crescimento de tecidos (Tang et al., 2022). Efeitos similares foram relatados por Yao et al. (2011), ao suplementarem leitões desmamados aos 21 dias com arginina, observaram redução da profundidade de criptas e o aumento da altura de vilosidades, além do maior peso do intestino delgado, acompanhados pela melhora da conversão alimentar e do ganho de peso diário.

Outro mecanismo que pode explicar a melhora do desempenho e da morfologia intestinal observados é relacionado ao aumento da síntese de creatina. A arginina participa da formação do NCG nos rins, um precursor de creatina, aumentando sua produção e disponibilidade (Dinesh et al., 2021). A creatina apresenta importante papel energético por ser

uma fonte de regeneração de ATP, sendo relevante principalmente para tecidos que apresentam elevado potencial de crescimento, intensa renovação celular e alta demanda energética, como os tecidos muscular e o epitelial intestinal (Long et al., 2025). A maior produção de creatina favorece a hipertrofia muscular, por meio da maior ativação da via da mTOR, além disso, favorece a manutenção da barreira intestinal, uma vez que ela aumenta a disponibilidade de energia e estimula a síntese proteica, colaborando para a renovação celular, aumentando o ganho de peso e melhorando a morfologia intestinal (Choi et al., 2025; Hu et al., 2023), conforme observado no presente estudo. Além disso, a creatina pode diminuir o catabolismo proteico, resultando em menor mobilização e oxidação de frações proteicas do músculo em momentos de elevada demanda energética e maior eficiência de uso dos nutrientes da dieta, favorecendo assim o crescimento corporal e o ganho de peso (Long et al., 2025; Wu et al., 2018).

Embora a morfologia intestinal tenha sido melhorada, não foram observadas diferenças no escore fecal e na incidência de diarreia. Estes resultados diferem de estudos como os de Wu et al. (2010) e Zhang et al. (2013), que relataram, respectivamente, reduções de 18% e 20,5% na incidência de diarreia, com a suplementação de 0,08% e 0,05% de NCG na dieta de leitões. Segundo estes autores, a redução da incidência de diarreia foi associada à melhora da integridade intestinal e da imunidade de mucosa promovidos pela maior disponibilidade de arginina. Entretanto, estes estudos foram realizados sob condições de elevado estresse, a partir do desafio por infecção experimental com *E. coli*. ou utilizando dietas menos complexas e com baixo teor de lácteos. No presente estudo, a ausência de diferenças entre estes parâmetros pode estar relacionada ao baixo desafio sanitário no ambiente experimental, diminuindo a pressão de infecção e a exposição a patógenos, uma vez que os efeitos do NCG sobre a redução da diarreia tendem a ser mais pronunciados em modelos experimentais com maior desafio sanitário ou inflamatório, no qual a um grau maior de comprometimento da barreira intestinal.

Além de promover a melhora sobre o desempenho e a morfologia intestinal, a arginina atua como substrato para a síntese de NO. No entanto, para que ele seja produzido é necessário a interação de diversos fatores, incluindo a atividade das arginases, sinalizações celulares, o estado fisiológico do animal, e a disponibilidade desse aminoácido (Morris et al., 2017; Wu et al., 2018). Durante o período pós-desmame a arginina participa de diversas vias metabólicas relacionadas ao crescimento, entretanto, esse aminoácido pode ter sido preferencialmente direcionado a processos de síntese proteica, crescimento muscular, manutenção da morfologia intestinal e síntese de creatina, não sendo direcionado para o metabolismo do NO, fazendo com

que os níveis plasmáticos não fossem alterados. Além disso, o aumento da síntese de NO pode ser acompanhado por níveis inalterados de nitrito e nitrato, intermediários usados para estimar os níveis plasmáticos dessa molécula, o que muitas vezes pode não refletir a real taxa de síntese e subestimar sua concentração (Tsikas, 2007; Kim-Shapiro; Gladwin, 2015).

No presente estudo, a suplementação com NCG não provocou alterações na atividade ou concentração de enzimas antioxidantes durante o período de 21 a 35 dias de idade. As enzimas SOD e CAT fazem parte do sistema de defesa do organismo na neutralização de radicais livres, prevenindo danos aos tecidos. Hu et al. (2023) observaram que a suplementação de leitões sob estresse de desmame com NCG aumenta a atividade da SOD na mucosa jejunal e no sangue. Embora os animais estivessem enfrentando um estresse do desmame, é possível inferir que o mesmo, de forma isolada, não foi capaz de induzir um estresse oxidativo intenso. Tal afirmação pode ser corroborada pela ausência de diferenças nos marcadores de danos oxidativos plasmáticos, incluindo malondialdeído e proteínas carbolinadas, sugerindo que o sistema antioxidante basal dos leitões foi capaz de atender as demandas de neutralização de espécies reativas de oxigênio. Essa condição sugere que a homeostase redox possa ter sido preservada e a produção de espécies reativas de oxigênio permaneceu em equilíbrio com os mecanismos de neutralização enzimáticos e não enzimáticos, protegendo os tecidos contra danos oxidativos. Consequentemente, eventuais efeitos antioxidantes do NCG podem não ter sido evidenciados, resultando em concentrações semelhantes dos níveis de SOD e CAT e também da capacidade antioxidante total (FRAP).

Outro fator que pode explicar a ausência de diferenças observadas sobre o sistema antioxidante no presente estudo é que essa resposta pode variar em duração e intensidade de acordo com o tecido analisado. Hu et al. (2023) demonstraram que a suplementação com NCG aumentou a atividade da GSH-Px plasmática e da SOD no jejuno, sem alterar a atividade da GSH-Px no jejuno e da SOD no soro. Esses resultados ilustram que os efeitos do NCG sobre o sistema antioxidante podem se apresentar de maneiras distintas, em razão da intensidade do desafio oxidativo em cada tecido. O epitélio intestinal é um dos principais locais de ação do NCG durante o período pós-desmame, uma vez que está exposto ao estresse nutricional, disbiose da microbiota e ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (Han et al., 2024). Desse modo, os mecanismos de ação antioxidantes promovidos pela maior disponibilidade da arginina, incluindo aumento da atividade da CAT e SOD tendem a agir de forma mais predominantemente no tecido intestinal do que na circulação sistêmica, onde o

desafio oxidativo é menos intenso (Hu et al., 2023; Zhang et al., 2021), sendo as diferenças plasmáticas mais difíceis de serem detectadas.

Apesar da ausência de alterações nos marcadores de estresse oxidativo, a avaliação da expressão gênica de citocinas inflamatórias demonstrou que a suplementação de NCG apresenta capacidade de modular o funcionamento desse sistema. O aumento quadrático das concentrações da IL-1 β não foi acompanhado por alterações nos níveis de NO nem nas atividades de SOD e CAT. Esta citocina, além dos efeitos pró-inflamatórios relatados na literatura, possui a capacidade de promover a modulação e ativação inicial da resposta imune inata, do recrutamento de células de defesa e da renovação da mucosa intestinal, contribuindo também para a manutenção da permeabilidade e da função de barreira (McEntee et al., 2019). Assim, é provável que a maior expressão de IL-1 β represente uma resposta de modulação inflamatória localizada no trato gastrointestinal e tenha sido provocada pelo estresse agudo do desmame ou pelo aumento de espécies reativas de oxigênio locais. De forma contrastante, Hu et al. (2023), observaram a redução da expressão de mRNA de IL-1 β na mucosa jejunal de leitões suplementados com NCG, resultando na atenuação da inflamação induzida pelo desmame. Por sua vez, a IL-10 é uma citocina anti-inflamatória responsável pela limitação de respostas inflamatórias exacerbadas, atuando enquanto mecanismo compensatório para a prevenção de danos aos tecidos (He et al., 2018). A ausência de alterações em sua expressão, associado a redução da expressão de TNF- α e à melhora da integridade intestinal observadas neste estudo sugerem que a suplementação com NCG promoveu uma modulação da resposta imune sem que ocorresse uma inflamação exacerbada que exigisse maior ativação de vias anti-inflamatórias e que provocasse danos ao tecido epitelial intestinal.

A expressão de mRNA do TNF- α apresentou uma tendência de redução linear com a suplementação de NCG. Esta redução é um achado que vai de encontro à melhora da saúde intestinal, uma vez que o aumento desta citocina é frequentemente associado ao aumento da permeabilidade intestinal e indução da expressão de outras citocinas pró-inflamatórias, comprometendo a função de barreira, a morfologia intestinal e aumentando a resposta inflamatória exacerbada decorrente do estresse do desmame (Tang et al., 2022; Han et al., 2024). Zheng et al. (2013), suplementaram leitões desmamados submetidos a desafio oxidativo com arginina e observaram a diminuição da expressão de mRNA de TNF- α e IL-6 no fígado, auxiliando na regulação da inflamação e na manutenção da barreira intestinal em condições de estresse.

Níveis elevados de TNF- α estão relacionados ao aumento da permeabilidade intestinal, uma vez que o aumento da inflamação intestinal compromete a expressão e organização das proteínas de junção estreita, como a OCL, a ZO-1 e a Claudina-1, cuja função é a regulação da permeabilidade da mucosa e o ancoramento do epitélio (Han et al., 2024). Nesse contexto, a redução da expressão de mRNA de TNF- α pode estar relacionada com o aumento de expressão de OCL observada no maior nível de suplementação com NCG, uma vez que a menor concentração dessa citocina atenua o potencial lesivo da inflamação no intestino e favorece a maior expressão de proteínas de junção. O aumento da expressão de OCL fortalece a barreira mecânica intestinal, protegendo a mucosa contra a entrada de patógenos, reduzindo assim a inflamação e mitigando processos inflamatórios que resultam na atrofia das vilosidades ou alterações morfológicas (Tang et al, 2022). Consequentemente, a preservação da morfologia intestinal pode favorecer os processos digestivos e diminuir os gastos com energia e aminoácidos para a ativação do sistema imune e reparação de danos ao epitélio, resultando em maior ganho de peso e aproveitamento dos nutrientes da dieta.

5. CONCLUSÃO

A suplementação com 0,10% de NCG durante os 21 aos 50 dias resulta em melhor desempenho, além de melhorar a morfologia e a integridade intestinal e atenuar respostas inflamatórias de leitões desmamados aos 21 dias de idade.

6. REFERÊNCIAS

AGROCERES PIC. Guia de crescimento. Rio Claro, SP: **Agrocere PIC**, 2021. Disponível em: Agrocere PIC – Guia de Crescimento. Acesso em: 13 jul. 2026.

ARNAUD, E. A.; GARDINER, G. E.; LAWLOR, P. G. Selected nutrition and management strategies in suckling pigs to improve post-weaning outcomes. **Animals**, v. 13, n. 12, p. 1998, 2023.

BONETTI, Andrea et al. Towards zero zinc oxide: feeding strategies to manage post-weaning diarrhea in piglets. **Animals**, v. 11, n. 3, p. 642, 2021.

DINESH, O. Chandani et al. Neonatal piglets can synthesize adequate creatine, but only with sufficient dietary arginine and methionine, or with guanidinoacetate and excess methionine. **The Journal of Nutrition**, v. 151, n. 3, p. 531-539, 2021.

FRANK, J. W. et al. Oral N-Carbamylglutamate Supplementation Increases Protein Synthesis in Skeletal Muscle of Piglets. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 2, p. 315-319, 2007.

HAN, X. et al. Dietary nutrition, intestinal microbiota dysbiosis and post-weaning diarrhea in piglets. **Animal Nutrition**, v. 17, p. 188-207, 2024.

HE, F. et al. Functions and signaling pathways of amino acids in intestinal inflammation. **BioMed Research International**, v. 2018, art. 9171905, 2018.

HU, N. et al. Effect of N-Carbamylglutamate Supplementation on Growth Performance, Jejunal Morphology, Amino Acid Transporters, and Antioxidant Ability of Weaned Pigs. **Animals**, v. 13, n. 20, p. 3183, 2023.

HU, C. J. et al. Dietary supplementation with arginine and glutamic acid modifies growth performance, carcass traits, and meat quality in growing-finishing pigs. **Journal of animal science**, v. 95, n. 6, p. 2680-2689, 2017.

JENTZSCH, Axel M. et al. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 2, p. 251-256, 1996.

KIM-SHAPIRO, Daniel B.; GLADWIN, Mark T. Pitfalls in measuring NO bioavailability using NOx. **Nitric oxide: biology and chemistry/official journal of the Nitric Oxide Society**, v. 44, p. 1, 2014.

LEVINE, Rodney L. et al. [49] Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. **Methods in enzymology**. Academic Press, 1990. p. 464-478.

LI, Shuai et al. Arginine and its metabolites stimulate proliferation, differentiation, and physiological function of porcine trophoblast cells through β -catenin and mTOR pathways. **BMC Veterinary Research**, v. 20, n. 1, p. 167, 2024.

LI, Y. X. et al. N-carbamylglutamate, a promising functional feed additive in swine production: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 303, p. 115719, 2023.

LIU, P. P. X. S. et al. Chito-oligosaccharide reduces diarrhea incidence and attenuates the immune response of weaned pigs challenged with *Escherichia coli* K88. **Journal of animal science**, v. 88, n. 12, p. 3871-3879, 2010.

LIVAK, Kenneth J.; SCHMITTGEN, Thomas D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ $\Delta\Delta$ CT method. **methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

LONG, David W. et al. Oral administration of L-arginine improves the growth and survival of sow-reared intrauterine growth-restricted piglets. **Animals**, v. 15, n. 4, p. 550, 2025.

LUISE, D. et al. A systematic review of the effects of functional amino acids on small intestine barrier function and immunity in piglets. **animal**, v. 17, p. 100771, 2023.

MAITO, Camila Demarco et al. Simultaneous feeding of calcium butyrate and tannin extract decreased the incidence of diarrhea and proinflammatory markers in weaned piglets. **Animal bioscience**, v. 35, n. 1, p. 87, 2021.

MARINI, Juan C. et al. The intestinal-renal axis for arginine synthesis is present and functional in the neonatal pig. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 313, n. 2, p. E233-E242, 2017.

MCENTEE, Craig P.; FINLAY, Conor M.; LAVELLE, Ed C. Divergent roles for the IL-1 family in gastrointestinal homeostasis and inflammation. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 1266, 2019.

MORRIS JR, Sidney M. Arginine metabolism revisited. **The Journal of nutrition**, v. 146, n. 12, p. 2579S-2586S, 2016.

MOU, Q. et al. Functional Amino Acids and Gut Health. **Animals**, v. 9, n. 6, p. 302, 2019.

PALENCIA, J. Y. P. et al. Effectiveness of citrulline and N-carbamoyl glutamate as arginine precursors on reproductive performance in mammals: A systematic review. **PLoS ONE**, v. 13, n. 12, p. e0209569, 2018.

PEREZ-PALENCIA, Jorge Y. et al. Effects of increasing dietary arginine supply during the three first weeks after weaning on pig growth performance, plasma amino acid concentrations, and health status. **Translational Animal Science**, v. 8, p. txae047, 2024.

PLUSKE, J. R. Feed- and feed additives-related aspects of gut health and development in weanling pigs. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 1, 2016.

ROSTAGNO, Horácio Santiago et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 5° edição. Viçosa, MG: Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa. 531p, 2024.

TANG, Q. et al. Nutrition strategies to control post-weaning diarrhea of piglets: From the perspective of feeds. **Animal Nutrition**, v. 17, p. 297-311, 2024.

TANG, X. et al. Weaning stress and intestinal health of piglets: A review. **Frontiers in Immunology**, v. 13, art. 1042778, 2022.

TSIKAS, Dimitrios. Analysis of nitrite and nitrate in biological fluids by assays based on the Griess reaction: appraisal of the Griess reaction in the L-arginine/nitric oxide area of research. **Journal of Chromatography B**, v. 851, n. 1-2, p. 51-70, 2007.

UPADHAYA, S. D.; KIM, I. H. The impact of weaning stress on gut health and the mechanistic aspects of several feed additives contributing to improved gut health function in weanling piglets—a review. **Animals**, v. 11, n. 8, p. 2418, 2021.

WANG, Chunping et al. Effectiveness and safety evaluation of graded levels of N-carbamylglutamate in growing-finishing pigs. **Animal Nutrition**, v. 10, p. 412-418, 2022.

WELLINGTON, Michael O. et al. Impact of L-Arginine and L-Glutamine supplementation on growth performance and immune status in weanling pigs challenged with *Escherichia coli* F4. **Journal of Animal Science**, v. 101, p. skad138, 2023.

WU, G. et al. Board-invited review: Arginine nutrition and metabolism in growing, gestating, and lactating swine. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 12, p. 5035-5051, 2018.

WU, X. et al. Dietary supplementation with L-arginine or N-carbamylglutamate enhances intestinal growth and heat shock protein-70 expression in weanling pigs fed a corn- and soybean meal-based diet. **Amino Acids**, v. 39, n. 3, p. 831-839, 2010.

YANG, K. M. et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* on diarrhea and intestinal barrier function of young piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88. *Journal of Animal Science*, v. 92, n. 4, p. 1496-1503, 2014.

YAO, K. et al. Dietary L-arginine supplementation enhances intestinal development and expression of vascular endothelial growth factor in weanling piglets. **British Journal of Nutrition**, v. 105, n. 5, p. 703-709, 2011.

ZHANG, F. et al. Dietary N-Carbamylglutamate Supplementation Boosts Intestinal Mucosal Immunity in *Escherichia coli* Challenged Piglets. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, p. e66280, 2013.

ZHANG, H. et al. Effects of dietary L-arginine and N-carbamylglutamate supplementation on intestinal integrity, immune function and oxidative status in intrauterine growth retarded suckling lambs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 16, p. 4145-4154, 2018.

ZHANG, Hao et al. Dietary arginine supplementation improves intestinal mitochondrial functions in low-birth-weight piglets but not in normal-birth-weight piglets. **Antioxidants**, v. 10, n. 12, p. 1995, 2021.

ZHENG, Ping et al. Protective effects of dietary arginine supplementation against oxidative stress in weaned piglets. **British journal of nutrition**, v. 109, n. 12, p. 2253-2260, 2013.

7. TABELAS

Tabela 1. Composição das dietas experimentais dos 21 a 35 dias de idade.

Ingrediente, %	CON	NCG1	NCG2	NCG3
Milho	48,590	48,590	48,590	48,590
Farelo de soja	17,500	17,500	17,500	17,500
Soro de leite	13,330	13,330	13,330	13,330
Soja micronizada	13,000	13,000	13,000	13,000
Óleo de soja	2,410	2,410	2,410	2,410
Fosfato bicálcico	1,653	1,653	1,653	1,653
Calcário	0,910	0,910	0,910	0,910
L-lisina	0,610	0,610	0,610	0,610
L-treonina	0,363	0,363	0,363	0,363
DL-metionina	0,350	0,350	0,350	0,350
Mistura Vitamínica	0,300	0,300	0,300	0,300
Sal	0,280	0,280	0,280	0,280
L-valina	0,203	0,203	0,203	0,203
Mistura mineral	0,200	0,200	0,200	0,200
Caulim	0,150	0,100	0,050	0,000
L-triptofano	0,111	0,111	0,111	0,111
L-isoileucina	0,040	0,040	0,040	0,040
NCG	-----	0,050	0,100	0,150
Composição nutricional calculada				
Energia Metabolizável, kcal/kg	3.450	3.450	3.450	3.450
Proteína bruta, %	20,26	20,26	20,26	20,26
Cálcio, %	0,900	0,900	0,900	0,900
P disponível, %	0,491	0,491	0,491	0,491
Sódio, %	0,226	0,226	0,226	0,226
Lactose, %	10,00	10,00	10,00	10,00
Lisina digestível %	1,446	1,446	1,446	1,446
Met +cis digestível %	0,868	0,868	0,868	0,868
Treonina digestível %	0,984	0,984	0,984	0,984
Triptofano digestível %	0,304	0,304	0,304	0,304
Valina digestível %	1,012	1,012	1,012	1,012
Isoleucina digestível %	0,796	0,796	0,796	0,796
Leucina digestível %	1,487	1,487	1,487	1,487

Tabela 2- Composição das dietas experimentais dos 36 aos 50 dias de idade.

Ingrediente, %	CON	NCG1	NCG2	NCG3
Milho	53,720	53,720	53,720	53,720
Farelo de soja	28,000	28,000	28,000	28,000
Soja micronizada	5,000	5,000	5,000	5,000
Soro de leite	4,670	4,670	4,670	4,670
Óleo de soja	3,600	3,600	3,600	3,600
Fosfato bicálcico	1,660	1,660	1,660	1,660
Calcário	1,150	1,150	1,150	1,150
Sal	0,440	0,440	0,440	0,440
L-lisina	0,420	0,420	0,420	0,420
Mistura vitamínica	0,300	0,300	0,300	0,300
DL-metionina	0,260	0,260	0,260	0,260
L-treonina	0,260	0,260	0,260	0,260
Mistura mineral	0,200	0,200	0,200	0,200
Caulim	0,150	0,100	0,050	0,000
L-valina	0,090	0,090	0,090	0,090
L-triptofano	0,080	0,080	0,080	0,080
NCG	----	0,050	0,100	0,150
Composição nutricional calculada				
Energia Metabolizável, kcal/kg	3.400	3.400	3.400	3.400
Proteína bruta, %	20,68	20,68	20,68	20,68
Cálcio, %	0,938	0,938	0,938	0,938
P disponível, %	0,443	0,443	0,443	0,443
Sódio, %	0,217	0,217	0,217	0,217
Lactose, %	3,500	3,500	3,500	3,500
Lisina digestível %	1,336	1,336	1,336	1,336
Met +cis digestível %	0,802	0,802	0,802	0,802
Treonina digestível %	0,909	0,909	0,909	0,909
Triptofano digestível %	0,281	0,281	0,281	0,281
Valina digestível %	0,936	0,936	0,936	0,936
Isoleucina digestível %	0,782	0,782	0,782	0,782

Tabela 3- Primers utilizados na expressão gênica

Gene	Sequência	Número de acesso
<i>ACTB</i>	F: CTTCTAGGCGACTGTTAGTG	XM_0031242803
	R: AGCCATGCCAATCTCATCTC	
<i>Claudin-1</i>	F:CTCTCCCCACATTCGAGATGATT	NM_001244539.1
	R:AGCCATTGACGTGATCCAGG	
<i>Occludin</i>	F:TCAGGTGCACCCTCCAGATT	NM_001163647.2
	R:TATGTCGTTGCTGGGTGCAT	
<i>ZO-1</i>	F:CCAACCATGTCTTGAAGCAGC	XM_021098896.1
	R:TGCAGGAGTGTGGTCTTCAC	
<i>TNF-α</i>	F:GCCCTTCCACCAACGTTTTTC	NM_214022.1
	R:CAAGGGCTCTTGATGGCAGA	
<i>IL-1β</i>	F:ACACACCTCTGACTCAAGCC	NM_001302388.2
	R:GGGGCCATCAGCCTCAAATA	
<i>IL-10</i>	F:CACTGCTCTATTGCCTGATCTTCC	NM_214041.1
	R:AAACTCTTCACTGGGCCGAAG	

ACTB: B-actina; *Claudin-1*: Claudina 1; *Occludin*: ocludina; *ZO-1*: Zônula Ocludens 1; *TNF- α* : Fator de necrose tumoral α ; *IL-1 β* : interleucina 1 β ; *IL-6*: Interleucina 6; *IL-10*: Interleucina 10;

Tabela 4 - Desempenho dos 21 aos 35 dias de idade

Variável	Dietas				SEM	P-valor	
	CON	NCG1	NCG2	NCG3		Linear	Quadrático
PMI (kg)	6,717	6,728	6,734	6,725	0,502		
PMF (kg) ^a	8,70	9,05	9,18	9,25	0,748	0,01	0,34
CRD (kg) ^b	0,248	0,265	0,264	0,277	0,027	0,02	0,81
GPD (kg) ^c	0,141	0,166	0,175	0,181	0,032	0,01	0,39
CA ^d	1,79	1,64	1,57	1,56	0,275	0,04	0,45

PMI: peso médio inicial, PMF: peso médio final, CRD: consumo de ração diário, GPD: ganho de peso diário, CA: conversão alimentar.

^aLinear: $Y_{PMF} = 8,756 + 0,370 \cdot NGC$ ($P < 0,01$; $R^2 = 0,89$).

^bLinear: $Y_{CRD} = 0,250 + 0,018 \cdot NGC$ ($P = 0,02$; $R^2 = 0,88$).

^cLinear: $Y_{GPD} = 0,145 + 0,026 \cdot NGC$ ($P < 0,01$; $R^2 = 0,91$).

^dLinear: $Y_{CA} = 1,769 - 0,162 \cdot NGC$ ($P = 0,04$; $R^2 = 0,88$).

Tabela 5 - Desempenho dos 21 aos 50 dias de idade

Variável	Dietas				SEM	P-valor	
	CON	NCG1	NCG2	NCG3		Linear	Quadrático
PMF (kg) ^a	15,96	16,94	17,3	16,89	1,357	0,01	0,02
CRD (kg) ^b	0,459	0,508	0,508	0,501	0,044	0,02	0,01
GPD (kg) ^c	0,330	0,365	0,378	0,363	0,037	0,02	0,02
CA	1,40	1,40	1,34	1,38	0,063	0,26	0,38

PMF: peso médio final, CRD: consumo de ração diário, GPD: ganho de peso diário, CA: conversão alimentar.

Tabela 6 – Escore fecal e incidência de diarreia dos 21 aos 35 dias de idade

Variável	Dietas				SEM	P-valor	
	CON	NCG1	NCG2	NCG3		Linear	Quadrático
Escore fecal	1,61	1,69	1,66	1,61	0,240	0,73	0,27
Incidência diarreia, %	12,1	13,5	11,6	10,8	5,492	0,30	0,38

Tabela 7 – Morfologia Intestinal

Variável	Dietas				SEM	P-valor	
	CON	NCG1	NCG2	NCG3		Linear	Quadrático
Duodeno							
Altura de vilosidade (µm) ^A	178,7	193,8	202,8	218,3	39,013	0,08	0,67
Profundidade de cripta (µm) ^a	190,3	223,8	201,1	177,3	33,135	0,20	0,01
Relação vilo:cripta ^b	1,007	0,895	1,020	1,248	0,221	0,01	0,02
Jejuno							
Altura de vilosidade (µm) ^B	147,0	178,0	173,6	170,6	31,903	0,12	0,08
Profundidade de cripta (µm) ^C	161,3	156,4	143,0	145,5	21,232	0,05	0,58
Relação vilo:cripta ^c	0,938	1,151	1,212	1,177	0,247	0,03	0,10
Íleo							
Altura de vilosidade (µm)	170,4	180,3	182,7	185,3	44,123	0,43	0,69
Profundidade de cripta (µm)	172,8	182,2	171,8	179,5	41,782	0,87	0,95
Relação vilo:cripta	1,025	1,008	1,152	1,057	0,309	0,55	0,66

^ALinear: $Y_{AVD} = 186,268 + 19,54 \cdot NCG$ ($P = 0,08$; $R^2 = 0,94$);

^CLinear: $Y_{PCJ} = 160,66 - 12,15 \cdot NCG$ ($P = 0,05$; $R^2 = 0,80$);

^cLinear: $Y_{VCJ} = 1,005 + 0,156 \cdot NCG$ ($P = 0,03$; $R^2 = 0,66$).

Tabela 8 – Marcadores de estresse oxidativo

Variável	Dietas				SEM	P-valor	
	CON	NCG1	NCG2	NCG3		Linear	Quadrático
PC (nmol/mL)	0,398	0,384	0,283	0,431	0,159	0,98	0,73
Proteína total (mg/mL)	0,575	0,590	0,519	0,509	0,148	0,43	0,56
MDA (nmol/mL)	2,95	2,31	3,29	3,57	1,216	0,39	0,37
FRAP (umol/mL)	1,05	1,15	1,02	1,11	1,58	0,56	0,72
NO (nmol/mL)	59,1	51,9	54,6	52,2	20,196	0,31	0,45
SOD (U/mL)	1,885	1,387	1,417	0,938	0,899	0,33	0,50
CAT (U/mL)	73,0	54,4	53,9	56,8	22,082	0,28	0,18

PC: Proteína Carbonilada, MDA: malondialdeído, FRAP: capacidade antioxidante total, NO: óxido nítrico, SOD: superóxido dismutase, CAT: catalase.

Tabela 9 – Expressão gênica

Variável	Dietas				SEM	P-valor	
	CON	NCG1	NCG2	NCG3		Linear	Quadrático
OCL ^a	1,000	1,373	1,012	1,753	0,551	0,02	0,30
CLA	1,000	1,067	1,022	0,964	0,658	0,87	0,76
ZO-1	1,000	0,997	1,989	1,177	0,995	0,28	0,20
IL10	1,000	1,015	1,198	1,337	0,728	0,25	0,79
IL1- β ^b	1,000	1,381	1,990	1,495	0,684	0,03	0,04
TNF- α ^A	1,000	0,841	1,014	0,590	0,450	0,10	0,35

OCL: Ocludina, CLA: Claudina, ZO-1: Zônula-Ocludens 1, IL10: Interleucina 10, IL1- β : Interleucina 1- β , TNF- α : Fator de Necrose Tumoral Alfa.

^aLinear: $Y_{OCL} = 1,000 + 0,379 \cdot NCG$ (P = 0,02; R² = 0,47).

^ALinear: $Y_{TNF-\alpha} = 1,020 - 0,212 \cdot NCG$ (P = 0,02; R² = 0,48).

8. ANEXOS

Anexo 1. Protocolo CEUAP.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DE PRODUÇÃO
CEUAP/UFV

Campus Universitário - Viçosa, MG - 36570-900 - Telefone: (31) 3899.3275 - e-mail: ceuas@ufv.br - site: www.ceuap.ufv.br

Viçosa, 29 de abril de 2025

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "**Suplementação com N-carbamilglutamato em dietas para leitões dos 21 aos 50 dias de idade**", protocolo n° 036/2025, sob a responsabilidade de **Alysson Saraiva** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo chordata, subfilo vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei n° 11.794, de 8 de outubro de 2008, do decreto n° 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi apreciado pela Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção da Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV) em reunião de **15 de abril de 2025**.

Data de Aprovação: **29 de abril de 2025** Finalidade: **(x)Pesquisa** ()Ensino
Vigência do Projeto: de **29 de abril de 2025 a 20 de julho de 2025**
Espécie/linhagem: **Porcos/Suínos (*Sus scrofa domesticus*)** N° de animais: **120** Peso: +/- **6,72 Kg**
Idade: **21 dias** Sexo: **Macho/Fêmea** Origem: **Sector Suinocultura DZO / UFV - CNPJ/CPF: 25.944.455/0001-96**

CERTIFICATE

We certify that the project entitled "**N-carbamylglutamate supplementation in diets for piglets from 21 to 50 days of age**", protocol n° 036/2025, under the responsibility of **Alysson Saraiva** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum chordata, subphylum vertebrata (except man), for scientific research purposes (or education) - is in accordance with the law n°. 11.794, of October 8, 2008, Decree n°. 6899 of July 15, 2009, and the rules issued by the Brazilian National Council for Animal Experimentation Control (CONCEA), and was approved by the Ethics Commission on the use of farm animals of Universidade Federal de Viçosa (CEUAP-UFV) in its meeting on **April 15th, 2025**.

Approval Date: **April 29th, 2025** Finality: **(x)Research** ()Education
Duration of the Project: from **April 29th, 2025 to July 20th, 2025**. Species / strain: **Pig/Swine (*Sus scrofa domesticus*)** N° of animals: **120** Weight: +/- **6,72 Kg** Age: **21 days** Sex: **Male/Female**
Source: **Sector Suinocultura DZO / UFV - CNPJ/CPF: 25.944.455/0001-96**

Cristina M. Veloso

Cristina Mattos Veloso
Coordenadora da CEUAP/UFV