

<https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n11a455.1-10>

Avaliação de desempenho e perfil metabólico em bovinos suplementados com solução de aminoácidos e minerais

Mike Menezes Pinto¹, Ronaldo Francisco de Lima², Salatiel Ribeiro Dias³, Clara Satsuki Mori⁵, Enrico Lippi Ortolani⁵, Antonio Humberto Hamad Minervino^{6*}

¹Mestrando da Universidade Federal do Oeste do Pará, Programa de Pós-Graduação em Biociências.

²Professor da Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade de Floresta, Santarém - PA Brasil.

³Graduando da Universidade Federal do Oeste do Pará, Bolsista PIBIC do Laboratório de Sanidade Animal (LARSANA, Santarém - PA).

⁵Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

⁶Professor da Universidade Federal do Oeste do Pará, Laboratório de Sanidade Animal (LARSANA), Santarém - PA Brasil.

*Autor para correspondência, E-mail: ah.minervino@gmail.com

Resumo. Objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação parenteral com uma formulação a base de aminoácidos (Roboforte) sobre o desempenho e o perfil metabólico de bovinos em confinamento. Foram utilizados 40 garrotes Nelores distribuídos em função do peso em quatro grupos experimentais: Controle (sem suplementação), Rob1 (uma aplicação de Roboforte no início do estudo), Rob2 (duas aplicações, no início e após 28 dias) e Rob7 (aplicações semanais até o dia 42, totalizando sete). O estudo teve duração total de 65 dias sendo 16 dias para adaptação a dieta do confinamento e 49 dias (7 semanas) em confinamento. Os animais foram avaliados semanalmente para obtenção do peso e coleta de sangue para avaliações hematológicas e bioquímicas. A análise estatística considerou os efeitos do tempo, tratamento e da interação. Foram observadas diferenças ($P < 0,0001$) no peso corporal médio dos bovinos com menor média de peso verificada no grupo controle em relação aos grupos suplementados, entretanto não foram verificadas diferenças no peso em relação a frequência de aplicação do Roboforte. Foi verificado efeito do tempo na grande maioria das variáveis, o que é compatível com a alteração de dieta sofrida pelos animais. Com base nos resultados de função hepática e renal pode-se afirmar que o produto Roboforte é seguro para utilização em bovinos, mesmo quando aplicado semanalmente. A concentração de glicose foi superior nos grupos Rob2 e Rob7 em relação aos demais grupos. No presente estudo a aplicação com Roboforte resultou em maior desempenho ponderal dos animais sendo recomendada sua utilização em sistemas de confinamento.

Palavras chave: aminoácidos, confinamento, metabolismo energético, ruminantes

Performance evaluation and metabolic profile in cattle supplemented with amino acids and minerals solution.

Abstract. We aimed to evaluate the effects of parenteral supplementation with a formulation based on amino acids (Roboforte) on the performance and metabolic profile of cattle in feedlot. Forty Nellore steers were distributed according to weight in four experimental groups: Control (without supplementation), Rob1 (one Roboforte application at baseline), Rob2 (two applications at baseline and after 28 days) and Rob7 (weekly applications until day 42, totaling seven). The study had a total duration of 65 days, with 16 days for adaptation to the confinement diet and 49 days (7 weeks) in confinement. The animals were evaluated weekly for weight gain and blood collection for hematological and biochemical evaluations. Statistical analysis considered the effects of time, treatment and interaction. Significant differences ($P < 0.0001$) were observed in the mean body weight with lower mean weight to control group in relation to the supplemented groups, however,

no differences in body weight were observed in relation to the frequency of application of Roboforte. It was verified the effect of the time in the great majority of the variables, which is compatible with the alteration of the diet due to the confinement. Based on the results of hepatic and renal function, it can be stated that the product Roboforte is safe for use in cattle, even when applied weekly. The concentration of glucose was higher in Rob2 and Rob7 groups than in the other groups. In the present study, the application with Roboforte resulted in a higher weight performance of Nelore cattle, being recommended its use in confinement systems take into consideration the productive and metabolic aspects. Further studies should evaluate the economic aspect of this supplementation.

Keywords: amino acids, energetic metabolism, ruminants, confinement

Evaluación del rendimiento y perfil metabólico en bovinos suplementados con solución de aminoácidos y minerales

Resumen. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la suplementación parenteral con una formulación a base de aminoácidos (Roboforte) sobre el rendimiento y el perfil metabólico de ganado de corral. Fueron utilizados cuarenta bovinos Nelores distribuidos según el peso en cuatro grupos experimentales: Control (sin suplementación), Rob1 (una aplicación de Roboforte al comienzo del estudio), Rob2 (dos aplicaciones, al principio y después de 28 días) y Rob7 (aplicaciones semanales hasta el 42, totalizando siete). El estudio duró un total de 65 días y 16 días para adaptar la dieta de confinamiento y 49 días (7 semanas) en confinamiento. Los animales fueron evaluados semanalmente para obtener peso y olectas de sangre para evaluaciones hematológicas y bioquímicas. El análisis estadístico examinó los efectos del tiempo, el tratamiento y la interacción. Se observaron diferencias significativas ($P < 0.0001$) en el peso corporal medio del ganado bovino con menor peso medio observado en el grupo de control en relación con los grupos suplementados, sin embargo, no se verificaron diferencias de peso en relación con la frecuencia de aplicación de Roboforte. El efecto del tiempo se verificó en la gran mayoría de las variables, lo que es compatible con el cambio en la dieta que pasan los animales. Basado en resultados de la función hepática y renal se puede afirmar que el producto Roboforte es seguro para su uso en el ganado, incluso cuando se aplica semanalmente. La concentración de glucosa fue mayor en los grupos Rob2 y Rob7 en comparación con los otros grupos. En el presente estudio, la aplicación con Roboforte dio como resultado un mayor rendimiento de peso de los animales y se recomendó su uso en sistemas de contención.

Palabras clave: aminoácidos, confinamiento, metabolismo energético, rumiantes

Introdução

Os ruminantes possuem uma expressiva atividade fermentativa pré-gástrica, sendo as proteínas da dieta submetidas a ação de proteases extracelulares microbianas, originando peptídeos de cadeia curta que são absorvidos pelos microrganismos ruminais, podendo ser utilizados na formação de proteína microbiana ou degradados para produção de energia (Berchielli et al., 2011; Hobson & Stewart, 2012). Esta ação simbiótica entre os animais, que contribuem com o habitat e o alimento e os microrganismos, que fornecem os ácidos graxos voláteis e aminoácidos (Kozloski, 2011), contribui para a manutenção da vida e desempenho de ambos (Van Soest, 1994). A maioria dos aminoácidos da dieta dos ruminantes é proveniente das proteínas microbianas sintetizadas no rumem, sendo assim, as exigências de proteínas na dieta podem ser atendidas devido à capacidade de absorção no intestino delgado das proteínas microbianas e de proteínas não degradadas no rumem (NRC, 2000). Em se tratando da proteína microbiana, só ela pode suprir de 50-100% da proteína metabolizável exigida na dieta de bovinos (Rossi Júnior et al., 2007), desde que níveis adequados de substratos sejam fornecidos aos ruminantes e que permitam um constante crescimento bacteriano no rumen (Bergman, 1990).

Nos últimos anos tem aumentado significativamente o número de bovinos de corte confinados no Brasil, atingindo em 2017 ao redor de 4,5 milhões de animais (ANUALPEC, 2019). Embora haja diferentes tipos de manejo alimentares adotados, tem aumentado muito o número de trabalhos que empregam dietas com 80% ou mais de concentrados (Monteschio et al., 2017; Souza et al., 2019). Tais dietas ricas em grãos são empregadas exatamente para aumentar o ganho de peso, melhorar a eficiência alimentar, diminuir o tempo de confinamento e apressar o envio dos animais para abate, facilitar o manejo dietético global, por meio da diminuição do volumoso oferecido e incremento da quantidade de energia disponível por meio do incremento do uso de grãos. Assim, tais dietas contêm 80% até 100% de alimentos concentrados. A maioria deles ricos em energia, pequena quantidade de volumosos e alguns aditivos que favoreçam a digestibilidade dos nutrientes (Fugita et al., 2018; Lopes & Magalhães, 2005)

Animais confinados são submetidos a condições de fermentação ruminal distintas, com oferecimento constante de substrato rico em energia para as bactérias do rúmen, que permitam expressivo desenvolvimento de colônias e alta disponibilidade de proteína microbiana, culminando com elevada produção de ácidos graxos voláteis e maiores quantidades de propionato no rúmen (Gershenzon et al., 2005; Wu & Papas, 1997). O resultado final é o maior desempenho de ganho de peso corpóreo dos animais (Custodio et al., 2017; Wu et al., 2014). Apesar deste eficiente processo fermentativo em condições de confinamento, pode ocorrer uma limitação na quantidade de determinados aminoácidos (aa), em especial os considerados não essenciais, fator este que pode ser um limitador da produtividade. Considerando o curto período de confinamento e o grande investimento feito neste sistema de produção, situações de possam reduzir o potencial de ganho de peso dos animais devem ser evitadas. Dentre as opções para atender as exigências de AA destacam-se o uso de AA protegidos, que não são degradados no rúmen e a suplementação parenteral de AA (Corrêa et al., 1998; Löest et al., 2018). Os AA são utilizados como fonte de energia, para síntese proteica dos tecidos animais e síntese de proteínas do sistema imune (Löest et al., 2018). Os AA de cadeia ramificada (BCAA) não são sintetizados pelos animais e necessitam ser obtidos no alimento (Berchielli et al., 2011; Van Soest, 1994). Diferentes estudos demonstraram a relação entre os BCAA e o sistema imune. A suplementação com BCAA aumentou a sobrevivência de camundongos desafiados por bactérias (Nakano et al., 2004) e restrições de BCAA reduziram a proliferação de linfócitos em ratos (Tsukishiro et al., 2000). Deste modo o sistema imune tem um requerimento de BCAA para a síntese de proteína de células imunes (Hawkins et al., 2006). Estudos recentes em ovinos demonstram outra potencial função dos aminoácidos no organismo está relacionada a exercerem efeitos sobre a expressão de diferentes genes relacionados ao sistema imune (Tsiplakou et al., 2018) e a reprodução (Zhang et al., 2019).

Apesar de existirem resultados demonstrando os benefícios da suplementação de AA protegidos no rúmen, incluindo BCAAs (Zhou et al., 2016), faltam estudos sobre a suplementação de aminoácidos via parenteral em bovinos de corte, especialmente em sistemas de confinamento. Deste modo objetivou-se avaliar os efeitos da suplementação com o produto comercial Roboforte, que contém na formulação 18 aminoácidos (todos aqueles considerados essenciais e 8 dentre os 10 considerados não essenciais) em diferentes frequências de aplicação, sobre o desempenho de bovinos confinados e avaliar possíveis alterações no perfil metabólico destes animais.

Material e métodos

O estudo foi conduzido de acordo com boas práticas de bem-estar animal e iniciado após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Oeste do Pará, UFOPA (protocolo 0420180028). Os animais foram mantidos em fazenda comercial no município de Santarém, PA, em baias coletivas com piso coberto por cama de palha de arroz, bebedouros automáticos e cochos de concreto. Foram utilizados um total de 40 garrotes da raça Nelore com cerca de 15 meses, pesando $245,1 \pm 50,5$ kg no início do estudo. Todos os animais foram submetidos a avaliações clínicas e aplicação de endectocida e benzimidazol no início do experimento. Os animais receberam a mesma dieta calculada com base nas exigências estabelecidas pelo BR-Corte (2010) para prover ganhos de 1,5 kg de peso vivo por dia. A dieta continha 70% de concentrado e 30% de volumoso (silagem de milho). O concentrado era composto com base na matéria seca de 80% de milho grão moído, 19% de farelo de soja e 1% de mistura mineral (Agrocrista, 50P, Goiânia, Brasil). Os animais foram submetidos a um período prévio de adaptação de 16 dias às novas condições de manejo e à dieta.

Os animais foram blocados de acordo com peso e após o período de adaptação foram distribuídos de maneira homogênea em quatro grupos experimentais que receberam a mesma dieta e mesmo manejo durante todo o decorrer do estudo, variando apenas a suplementação com Roboforte, que foi aplicado de acordo com a indicação do fabricante (1 mL/20 Kg de peso vivo, por via subcutânea). Assim os seguintes tratamentos foram empregados:

Grupo controle: sem aplicação de Roboforte (Controle), mas recebendo uma aplicação subcutânea de solução fisiológica (NaCl 0,9%) no início do estudo (D0).

Grupo Rob1: Recebeu no dia zero uma única aplicação de Roboforte (Rob1)

Grupo Rob2: Duas aplicações de Roboforte realizadas nos dias D0 e D+28 (Rob2)

Grupo Rob7: Aplicação semanais de Roboforte (D0, D7, D14, D21, D28, D35 e D42)

Durante todo o período do estudo, os animais foram alojados em oito baias com cinco animais em cada baia sendo duas baias para cada tratamento. Uma das baias alojava os animais mais leves e outra os animais mais pesados. A partir do início do estudo, os animais foram pesados em intervalos semanais até o D49 quando o estudo foi encerrado. As pesagens sempre foram precedidas de jejum hídrico e alimentar por no mínimo 14 horas. Os valores do peso corpóreo individual corporal foram utilizados para as doses do suplemento.

Os animais foram avaliados nos seguintes momentos: D0, D7, D14, D21, D28, D35, D42 e D49. Em todos os momentos de avaliação foram obtidas amostras de sangue por meio de punção jugular externa em sistema a vácuo com tubos com ou sem anticoagulantes. As coletas de sangue foram realizadas em tronco de contenção evitando ao máximo o estressar os animais. Os tubos com anticoagulantes foram mantidos em refrigeração imediatamente após a coleta até o processamento, realizado em até 6 horas. Tubos sem anticoagulantes foram mantidos em temperatura ambiente para a formação do coágulo e posteriormente centrifugados a 1.000 x *g* por 10 minutos para obtenção do soro. Alíquotas de soro e plasma foram congeladas a -80° C e descongeladas uma única vez para as análises laboratoriais.

Para a avaliação hematológica foi determinado o volume globular, número de hemácias, concentração de hemoglobina total, número de leucócitos e contagem de plaquetas, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em analisador hematológico (modelo BC 2800 Vet, Mindray, Shenzhen, China).

O estresse oxidativo foi avaliado pela atividade da superóxido dismutase (SOD) e da glutathione peroxidase (GPx). As amostras de sangue total para determinação de SOD e GPx foram centrifugadas a 1000 *g* por 10 minutos em centrífuga refrigerada a 4°C com desaceleração lenta, sendo retirado o plasma e o *buffycoat*. Posteriormente as hemácias foram lavadas três vezes com solução de fosfato (PBS 10%) e a papa de hemácias obtida foi acondicionada em microtubos âmbar e congelada em freezer a -80°C para posterior análise. A atividade da SOD e GPx foi determinada em analisador bioquímico automático marca Randox (RX Daytona, Randox®, Antrim, UK) utilizando-se kits comerciais (Ransod, Ransel, Randox®, Antrim, UK). As análises bioquímicas foram realizadas em analisador bioquímico automático Daytona RX (Randox®, Antrim, Reino Unido) com kits específicos para cada variável, sendo mensuradas as concentrações da proteína total, albumina, ureia, creatinina, colesterol, triglicerídeos, beta-hidroxibutirato, ácidos graxo não esterificados (NEFA), bilirrubina total, bilirrubina direta, glicose, lactato, Ca, P e Mg, além das atividades das enzimas aspartato-amino transferase (AST), gama-glutamyl transferase (GGT) e creatina quinase (CK).

O procedimento GLIMMIX (generalized linear mixed models – GLMM) do SAS (versão 9.4) foi utilizado para analisar os dados em uma estrutura de dados repetidos ao longo do tempo. A unidade experimental (bovino) foi o objeto das medidas repetidas no tempo. O tipo de distribuição dos dados foi especificado nos modelos GLMM conforme a natureza dos dados. A opção KR foi utilizada na correção de graus de liberdade no modelo. Para todas variáveis respostas estudadas, o dia zero foi utilizado no modelo estatístico como uma covariável de forma a normalizar diferenças entre grupos e animais no momento inicial do delineamento experimental. A opção "Ilink" do modelo GLIMMIX foi utilizado para expressar as variáveis na escala original. Probabilidades de $P < 0,05$ foram consideradas como significantes, e probabilidades entre 0,05 e 0,10 foram discutidas como tendências. Todos os dados estão expressos como média dos quadrados mínimos $\pm$ erro padrão da média.

Resultados

A [tabela 1](#) apresenta a análise estatística do peso corporal e de variáveis bioquímicas séricas dos bovinos dos diferentes grupos experimentais. Verifica-se que o desempenho ponderal demonstrado nos grupos de animais tratados com Roboforte, independentemente da frequência de aplicação, foi melhor que o demonstrado pelos animais do grupo controle ($p < 0,0001$). Considerando todo o período de estudo, os animais dos grupos tratados com Roboforte mostraram maior ganho médio de peso vivo, que culminou com mais expressivo ganho médio de peso vivo diário para os animais tratados com Roboforte quando comparados aos animais do grupo controle. Em relação ao ganho de peso total no período os bovinos apresentaram os seguintes resultados: Controle: 67,49 kg; Rob1: 82,53 kg; Rob2: 78,47; Rob7: 79,47. O ganho de peso diário calculado ao final do experimento apresentou os seguintes resultados: Controle: $1,38 \pm 0,08$; Rob1: $1,68 \pm 0,09$; Rob2: $1,60 \pm 0,08$; Rob7: $1,62 \pm 0,09$. Como era de se esperar houve efeito do dia sobre o peso corporal dos animais, devido ao ganho de peso decorrente do confinamento, mas não houve interação entre tratamento e dia. A suplementação com Roboforte resultou em um ganho de peso diário adicional em relação ao controle de 21,7%, 15,9% e 17,4% para os grupos Rob1, Rob2 e Rob7, respectivamente.

Tabela 1. Peso corporal e concentração sérica de variáveis bioquímicas de bovinos Nelore confinados submetidos a diferentes tratamentos

Variável	Tratamentos					p		
	Controle	Rob1	Rob2	Rob7	SEM	Trat	Day	Trat*day
Peso corporal, Kg	277,2 ^b	285,8 ^a	285,0 ^a	283,6 ^a	1,180	<0,000	<0,000	0,862
PT (g/L)	67,2	66,3	66,8	66,6	0,032	0,194	<0,000	0,936
Albumina (g/L)	31,3 ^{ab}	31,0 ^b	31,6 ^a	31,4 ^{ab}	0,510	0,042	<0,000	0,996
BD (μmol/L)	1,11	1,07	1,14	1,15	0,003	0,456	<0,001	0,231
BT (μmol/L)	3,7 ^a	3,9 ^a	3,1 ^b	3,4 ^{ab}	0,010	0,013	<0,001	0,303
Ureia (mg/dl)	17,5 ^{ab}	16,9 ^{ab}	16,6 ^b	18,4 ^{ab}	0,912	0,001	<0,001	0,156
Creatinina (μmol/L)	88,8	89,4	88,7	88,6	0,012	0,963	<0,001	0,949
Ca (mmol/L)	1,37 ^b	1,41 ^a	1,42 ^a	1,39 ^b	0,047	<0,000	<0,000	0,587
P (mmol/L)	3,02 ^b	3,15 ^a	2,92 ^c	2,94 ^{bc}	0,094	<0,000	<0,000	0,620
Mg (mmol/L)	0,35	0,34	0,35	0,34	0,013	0,266	<0,000	0,561

p = GLIMIXL (Trat=tratamento; day=dia; trat*day=interação tempo tratamento). Letras distintas na mesma linha indicam diferença pelo teste Least Squares Means. Rob1 = recebeu uma aplicação de Roboforte. Rob2 = duas aplicações (D0 e D28). Rob7 = aplicações semanais durante todo experimento. Sombreamento nas linhas denota diferença em relação ao tratamento.

Foi verificado efeito do tempo sobre todas as variáveis. Tal resultado é decorrente do sistema de confinamento submetido aos animais, uma vez que ocorre uma radical mudança no tipo de alimentação e consequente aporte de nutrientes o que resulta em alterações nas variáveis bioquímicas no decorrer do estudo. Em relação ao tratamento observa-se que as variáveis albumina, BT, ureia, Ca e P apresentaram diferença entre os grupos experimentais.

A tabela 2 apresenta a concentração média de variáveis bioquímicas relacionadas ao metabolismo energético. Novamente foi verificado o efeito do tempo (dia) sobre todas as variáveis bioquímicas avaliadas. Em relação as variáveis bioquímicas do metabolismo energético foram observadas diferenças entre grupos para a Glicose, BHB e NEFA, havendo interação entre tempo e tratamento apenas para o NEFA.

Tabela 2. Análise estatística da concentração sanguínea de variáveis bioquímicas relacionadas com o metabolismo energético em bovinos Nelores confinados submetidos a diferentes tratamentos

Variável	Tratamentos					p		
	Controle	Rob1	Rob2	Rob7	SEM	Trat	Day	Trat*day
Triglicerídeos (mmol/L)	0,48	0,46	0,49	0,48	1,144	0,406	<0,000	0,917
Colesterol (mmol/L)	2,23	2,15	2,25	2,27	1,504	0,143	<0,000	0,994
Glicose (mmol/L)	5,39 ^b	5,23 ^b	5,55 ^a	5,64 ^a	1,088	<0,001	<0,000	0,400
Lactato (mmol/L)	3,99	3,65	3,74	4,27	1,973	0,175	0,009	0,785
NEFA (mmol/l)	0,267 ^{bc}	0,254 ^c	0,299 ^{ab}	0,306 ^a	0,012	0,009	<0,000	0,002
BHB (mmol/l)	0,234 ^b	0,263 ^a	0,230 ^b	0,231 ^b	0,007	0,0026	0,001	0,383

p = GLIMIXL (Trat=tratamento; day=dia; trat*day=interação tempo tratamento). Letras distintas na mesma linha indicam diferença pelo teste Least Squares Means. Rob1 = recebeu uma aplicação de Roboforte. Rob2 = duas aplicações (D0 e D28). Rob7 = aplicações semanais durante todo experimento. Sombreamento nas linhas denota diferença em relação ao tratamento.

A tabela 3 apresenta a análise estatística da atividade sérica de diferentes enzimas avaliadas no decorrer do estudo.

Tabela 3. Análise estatística da atividade de enzimas sanguíneas de bovinos Nelore confinados submetidos a diferentes tratamentos

Variável	Tratamentos					p		
	Controle	Rob1	Rob2	Rob7	SEM	Trat	Day	Trat*day
GPx	440,5	451,8	446,8	467,5	15,8	0,669	<0,000	0,994
SoD	1,896 ^a	1,620 ^c	1,772 ^b	1,657 ^c	0,0387	<0,000	<0,000	0,533
AST	31,09	32,21	32,99	31,12	0,5022	0,023	<0,000	0,895
GGT	10,11	9,99	10,11	9,83	0,1694	0,638	<0,000	0,998
CK	65,56	61,55	68,93	66,27	33,287	0,4624	0,067	0,448

Letra distintas na mesma linha indicam diferença pelo teste Least Squares Means. Rob1 = recebeu uma aplicação de Roboforte. Rob2 = duas aplicações (D0 e D28). Rob7 = aplicações semanais durante todo experimento.

Todas as enzimas avaliadas, com exceção da CK, apresentaram resultados indicando o efeito do tempo sobre sua atividade sérica no decorrer do estudo, no entanto apenas a atividade da SoD apresentou diferença entre os grupos ($P < 0,05$), não havendo interação entre tempo e tratamento.

Discussão

No que tange a diferença no ganho de peso entre os grupos experimentais foi verificada uma superioridade dos grupos tratados com Roboforte em relação ao controle. Este resultado representa uma grande vantagem de utilização do produto em sistemas de confinamento, com um ganho de peso médio 18,4% superior nos grupos tratados em relação ao controle. Os aminoácidos podem ser utilizados como combustíveis no ciclo de Krebs e convertidos em glicose, componente nutricional essencial em ruminantes (Lehninger, 2006). Em tese um maior aporte de aminoácidos poderia resultar em maior disponibilidade de glicose, o que foi corroborado no presente estudo uma vez que a glicose plasmática foi superior nos grupos Rob2 e Rob7 em relação ao grupo controle. Interessantemente, o efeito do produto sobre o ganho de peso não diferiu entre animais que receberam apenas uma aplicação e animais que receberam sete aplicações o que pode indicar que a diferença de peso observada estaria mais relacionada a um possível efeito secundário da aplicação de Roboforte do que propriamente de um efeito direto relacionado a utilização dos aminoácidos disponíveis para queima e conversão em glicose.

A maior limitação deste estudo foi a impossibilidade de avaliação do consumo de alimentos uma vez que os animais foram mantidos em baias coletivas. Como houve variabilidade entre os animais em estudo a diferença no ganho de peso poderia estar associada a uma diferença na eficiência alimentar, sendo que futuros estudos são necessários para avaliar o efeito de diferentes frequências de aplicação de Roboforte sobre o consumo de MS e a conversão alimentar. A ausência dos dados individualizados de consumo de MS também dificulta a avaliação econômica do uso do suplemento. No presente estudo não foi realizada tal avaliação, sendo um importante dado para a avaliação do custo-benefício da utilização do Roboforte em sistemas de confinamento.

Não foram verificados efeitos do tratamento ou dia sobre as variáveis hematológicas (dados não apresentados). Tais variáveis que se mantiveram dentro dos valores de referência para a espécie no decorrer do estudo. Apesar de limitado valor do ponto de vista de avaliação metabólica, os dados hematológicos, especialmente RBC, WBC e VG, foram utilizados neste estudo muito mais para uma avaliação clínica dos animais, garantindo que todos os bovinos estivessem saudáveis no decorrer do estudo (Weiss & Wardrop, 2010). Dentre os parâmetros bioquímicos analisados, a concentração de ureia e albumina apresentaram diferenças entre os grupos experimentais. Interessantemente estas diferenças não seguiram um padrão consistente em relação aos grupos. A concentração média de Albumina foi superior no grupo Rob2 em relação ao Rob1 enquanto a ureia foi superior no grupo Rob7 em relação ao Rob2. Ambas as variáveis estão relacionadas com o metabolismo proteico em ruminantes, sendo esperado um incremento em função de maior disponibilidade de proteínas na dieta (Minervino et al., 2004). Verificou-se que a suplementação com Roboforte não foi suficiente para produzir efeitos sobre estes indicadores proteicos sendo que fatores como a variação individual e a mudança da dieta durante o confinamento podem ter contribuído para os resultados obtidos.

Em relação às variáveis do metabolismo energético, a concentração plasmática de glicose foi superior nos grupos Rob2 e Rob7 em relação aos demais grupos, enquanto os valores de NEFA apresentaram uma maior variação, sendo que o grupo Rob7 foi superior aos grupos controle e Rob1 e o grupo Rob2 apresentou valores médios superiores ao grupo Rob1. Um aumento na concentração de glicose em função da aplicação de produto rico em aminoácidos é facilmente explicado devido às características do metabolismo de bovinos, que utilizam como combustível energético os corpos cetônicos formados a partir dos AGV resultantes da fermentação ruminal. Nos ruminantes a glicose se origina da gliconeogênese a partir do ácido propiônico e também a partir dos aminoácidos. Deste modo uma maior disponibilidade de aminoácidos poderia ser utilizada como precursor da glicose por meio do ciclo de Krebs. No entanto, os valores de NEFA deveriam se comportar de maneira inversa, uma vez que o NEFA é oriundo da disponibilização sanguínea de ácidos graxos estocados no tecido adiposo e geralmente está associado a uma condição de balanço energético negativo (Adewuyi et al., 2005), o que não foi o caso do presente estudo. Uma possível explicação para estes resultados está relacionada ao estímulo à produção de hormônio do crescimento em ruminantes após infusão de alguns aminoácidos, como já comprovado em estudos experimentais (Davis, 1972; Hertelendy et al., 1970). O hormônio do crescimento pode influenciar a mobilização de lipídios do tecido adiposo e resultar em concentrações maiores de NEFA (Eversole et al., 1981). Uma maior estimulação de hormônio do crescimento em função de maiores frequências de administração parenteral de aminoácidos justificaria ainda o maior desempenho ponderal observado neste estudo. No presente estudo não foi possível determinar as concentrações sanguíneas do hormônio do crescimento, insulina e IGF-1 dificultando a comprovação desta hipótese.

Em relação ao beta-hidroxibutirato (BHB) observou-se um maior valor no grupo Rob1 em relação aos demais. O BHB é produzido a partir do AGV butirato no epitélio ruminal ou por meio da síntese hepática a partir de ácidos graxos, sendo utilizado como combustível nos processos metabólicos dos ruminantes (Dirksen & Breitner, 1993). Não foi possível identificar uma razão biológica para esta elevação das concentrações de BHB apenas em um dos grupos suplementados com Roboforte.

A atividade sérica das enzimas CK, GGT e AST manteve-se dentro dos limites de normalidade no decorrer do estudo (Kaneko et al., 2008) indicando que não houve sobrecarga hepática mesmo com aplicações semanais do suplemento. Dentre os indicadores de estresse oxidativo avaliados: glutathione peroxidase (GPx) e superóxido dismutase (SOD), verificou-se efeito do tratamento apenas para SOD, com maiores atividades observada no grupo controle em relação aos demais grupos. A SOD é uma enzima envolvida no sistema antioxidante, sendo considerada a primeira linha de defesa antioxidante, convertendo o ânion superóxido em H_2O_2 (Machado et al., 2014). Interessantemente, no presente estudo, o tratamento com Roboforte não estimulou uma melhor resposta imune observável pelas variáveis indicativas de estresse oxidativo analisadas (SOD e GPx). Estudo recente em ovinos demonstrou que os aminoácidos no organismo estão ligados a expressão de diferentes genes relacionados ao sistema imune (Tsiplakou et al., 2018) sendo necessários maiores estudos com uma avaliação mais abrangente e utilizando desafios imunológicos, para avaliar os efeitos de aminoácidos parenterais sobre o sistema imune.

Os grupos Rob1 e Rob2 apresentaram concentração de Ca superior ao Controle, entretanto tal diferença não foi verificada no grupo Rob7. Como o suplemento possui Ca em sua composição esperava-se que a frequência de aplicação fosse diretamente relacionada com a concentração sérica de Ca, no entanto foram observados valores menores justamente no grupo com maior frequência de suplementação, em comparação com os grupos Rob1 e Rob2. Em relação ao P, também presente na composição do suplemento utilizado, o grupo Rob1 apresentou maior concentração sérica em relação aos demais grupos. As concentrações de Ca e P são reguladas por um eficiente sistema metabólico que visa manter uma concentração sérica constante. A mudança da dieta para uma alimentação rica em grãos que possuem maiores quantidades de Ca e P pode ter contribuído para estas oscilações.

Foi verificado efeito do tempo na grande maioria das variáveis, o que é compatível com a alteração de dieta sofrida pelos animais, conforme a metodologia do projeto. Com base nos resultados de função hepática e renal pode-se afirmar que o produto Roboforte é seguro para utilização em bovinos mesmo quando aplicado semanalmente na dose recomendada pelo fabricante.

Um dos compostos do Roboforte é a Vitamina B12 e apesar da não determinação dos níveis séricos desta vitamina no presente estudo, pesquisas recentes mostram que as concentrações de B12 séricas

aumentam quando se disponibiliza aos animais uma alimentação rica em fibras e inversamente, observa-se uma redução da concentração de B12 quando da diminuição da quantidade de fibras aumento de carboidratos na dieta (Beaudet et al., 2016). Isso é explicado pela presença de cobalto em alimentos volumosos o que permite a síntese de vitamina B12 por microrganismos ruminais (Beaudet et al., 2016; Suttle, 2010). No presente estudo os animais receberam dieta rica em concentrados, condição onde a vitamina B12 é mais requerida devido a menor síntese ruminal. Deste modo a suplementação parenteral com vitamina B12 pode ter contribuído para a diferença de ganho de peso observada nos grupos suplementados em relação ao controle (Sutton & Elliot, 1972).

Novos estudos, com um maior número de repetições, são necessários para melhor compreensão da ação do medicamento utilizado sobre o metabolismo animal que resultou no maior ganho médio de peso vivo observado. Estudos recentes sugerem que alguns aminoácidos não se limitam a formação de proteínas, participando na sinalização celular, expressão gênica e regulação metabólica (Wu et al., 2014) com uma maior expressão gênica relacionadas com importantes funções orgânicas, dentre elas a atividade do sistema imune e do sistema reprodutivo. Nesse estudo, o fornecimento de Roboforte, pode ter suprido eventuais déficits de aminoácidos específicos poderia atuar como estimulante do metabolismo e promotor de crescimento.

Referências bibliográficas

- Adewuyi, A. A., Gruys, E. & Van Eerdenburg, F. J. C. M. (2005). Non esterified fatty acids (NEFA) in dairy cattle. A review. *Veterinary Quarterly*, 27(3):117-126.
- ANUALPEC. (2019). *Anuário da Pecuária Brasileira* (20th ed. Vol. 1). São Paulo, São Paulo, Brasil: Instituto FNP.
- Beaudet, V., Gervais, R., Graulet, B., Nozière, P., Doreau, M., Fanchone, A. & Girard, C. L. (2016). Effects of dietary nitrogen levels and carbohydrate sources on apparent ruminal synthesis of some B vitamins in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(4):2730-2739.
- Berchielli, T. T., Pires, A. V. & Oliveira, S. G. (2011). *Nutrição de Ruminantes*. Jaboticabal, Brazil: FUNEP.
- Bergman, E. N. (1990). Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews*, 70(2):567-590.
- BR-Corte (2010). Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados. Editora UFV, Viçosa-MG, Brasil. 2 edição, 2010. 193 p.
- Corrêa, M. G. P., Corrêa, I., Lemos, A. M., Marin, J. M. & Norte, A. L. (1998). Influência da suplementação com aminoácidos sobre o ganho de peso em bovinos no período da entressafra. *Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes*, 53(305):53-55.
- Custodio, S. A. S., Silva, D. A. L., Dias, K. M., Tomaz, M. P. P. o., Goulart, R. & Carvalho, E. R. (2017). Desempenho de bovinos de corte alimentados com diferentes forragens e alojados em baias individuais ou coletivas. *PUBVET*, 11(7):646-743.
- Davis, S. L. (1972). Plasma levels of prolactin, growth hormone, and insulin in sheep following the infusion of arginine, leucine and phenylalanine. *Endocrinology*, 91(2):549-555.
- Dirksen, G. & Breitner, W. (1993). A new quick-test for semiquantitative determination of beta-hydroxybutyric acid in bovine milk. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 40(1-10):779-784.
- Eversole, D. E., Bergen, W. G., Merkel, R. A., Magee, W. T. & Harpster, H. W. (1981). Growth and muscle development of feedlot cattle of different genetic backgrounds. *Journal of animal science*, 53(1):91-101.
- Fugita, C. A., Prado, R. M., Valero, M. V., Bonafé, E. G., Carvalho, C. B., Guerrero, A. & Prado, I. N. (2018). Effect of the inclusion of natural additives on animal performance and meat quality of crossbred bulls (Angus vs. Nelore) finished in feedlot. *Animal Production Science*, 58(11):2076-2083. doi: <https://doi.org/10.1071/AN16242>.
- Gershenzon, J., and R. Croteau. 1991. Terpenoids. Pages 165–219 in, *Metabolites*, H. T. I. w. S. P., Vol. 1. G. A. Rosenthal, a. M. R. B., ed. Academic, Press, S. D., CA., Bach, A., Calsamiglia, S. &

- Stern, M. D. (2005). Nitrogen Metabolism in the Rumen. *Journal of Dairy Science*, 88, Supplement(0):E9-E21. doi: [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)73133-7](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73133-7)
- Hawkins, R. A., O’Kane, R. L., Simpson, I. A. & Vina, J. R. (2006). Branched-chain amino acids: metabolism, physiological function, and application. *Amino Acids*, 11-9.
- Hertelendy, F., Takahashi, K., Machlin, L. J. & Kipnis, D. M. (1970). Growth hormone and insulin secretory responses to arginine in the sheep, pig, and cow. *General and Comparative Endocrinology*, 14(1):72-77.
- Hobson, P. N. & Stewart, C. S. (2012). *Rumen microbial ecosystem* (2 ed.). Londo, UK: Blackie Academic & Professional.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W. & Bruss, M. L. (2008). *Clinical biochemistry of domestic animals* (Vol. 1). New York: Academic press.
- Kozloski, G. V. (2011). *Bioquímica dos ruminantes* (3a Ed. ed. Vol. 1). Santa Maria: Editora Universidade Federal de Santa Maria.
- Lehninger, N. D. L. (2006). *Principios de bioquímica. São Paulo*.
- Löest, C. A., Gilliam, G. G., Waggoner, J. W. & Turner, J. L. (2018). Post-ruminal branched-chain amino acid supplementation and intravenous lipopolysaccharide infusion alter blood metabolites, rumen fermentation, and nitrogen balance of beef steers. *Journal of Animal Science*, 96(7):2886-2906.
- Lopes, M. A. & Magalhães, G. P. (2005). Análise da rentabilidade da terminação de bovinos de corte em condições de confinamento: um estudo de caso. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 57(3):374-379.
- Machado, V. S., Oikonomou, G., Lima, S. F., Bicalho, M. L. S., Kacar, C., Foditsch, C. & Bicalho, R. C. (2014). The effect of injectable trace minerals (selenium, copper, zinc, and manganese) on peripheral blood leukocyte activity and serum superoxide dismutase activity of lactating Holstein cows. *The Veterinary Journal*, 200(2):299-304.
- Minervino, A. H. H., Cruz Cardoso, E., Sá, C. F. B. & Rodrigues, R. (2004). Perfil bioquímico sanguíneo de vacas sindi no pós-parto, início e final de lactação em condições de pastejo na Amazônia. *Revista de Ciências Agrárias*, 42(42):169-175.
- Monteschio, J. O., Souza, K. A., Vital, A. C. P., Guerrero, A., Valero, M. V., Kempinski, E. M. B. C., . . . Prado, I. N. (2017). Clove and rosemary essential oils and encapsuled active principles (eugenol, thymol and vanillin blend) on meat quality of feedlot-finished heifers. *Meat Science*, 13050-57. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.002>.
- Nakano, Y., Toyosawa, S. & Takano, Y. (2004). Eccentric localization of osteocytes expressing enzymatic activities, protein, and mRNA signals for type 5 tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP). *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 52(11):1475-1482.
- NRC. (2000). *Nutrient Requirements of Beef Cattle* (7th rev. ed.). Washington, DC, USA: Natl. Acad. Press.
- Rossi Júnior, P., Sampaio, A. A. M. & Vieira, P. F. (2007). Disponibilidade e absorção de aminoácidos em bovinos alimentados com diferentes fontes de compostos nitrogenados. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36(4):960-967.
- Souza, K. A., Monteschio, J. O., Mottin, C., Ramos, T. R., Pinto, L. A. M., Eiras, C. E., . . . Prado, I. N. (2019). Effects of diet supplementation with clove and rosemary essential oils and protected oils (eugenol, thymol and vanillin) on animal performance, carcass characteristics, digestibility, and behavior activities for Nellore heifers finished in feedlot. *Livestock Science*, 220190-195. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2018.12.026>.
- Suttle, N. F. (2010). *The mineral nutrition of livestock*. New York, USA: CABI Publishing.
- Sutton, A. L. & Elliot, J. M. (1972). Effect of ratio of roughage to concentrate and level of feed intake on ovine ruminal vitamin B12 production. *The Journal of Nutrition*, 102(10):1341-1346.
- Tsiplakou, E., Mavrommatis, A., Skliros, D., Sotirakoglou, K., Fletmetakis, E. & Zervas, G. (2018). The effects of dietary supplementation with rumen-protected amino acids on the expression of several

- genes involved in the immune system of dairy sheep. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(6):1437-1449.
- Tsukishiro, T., Shimizu, Y., Higuchi, K. & Watanabe, A. (2000). Effect of branched-chain amino acids on the composition and cytolytic activity of liver-associated lymphocytes in rats. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 15(8):849-859.
- Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant* (Vol. 1). Ithaca, NY, USA: Cornell University Press.
- Weiss, D. J. & Wardrop, J. K. (2010). *Schalm's Veterinary Hematology*. Iowa, USA.
- Wu, G., Bazer, F. W., Dai, Z., Li, D., Wang, J. & Wu, Z. (2014). Amino acid nutrition in animals: protein synthesis and beyond. *Annual Review of Animal Biosciences*, 2(1):387-417.
- Wu, S. H. W. & Papas, A. (1997). Rumen-stable delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 28(3):323-334. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-409X\(97\)00087-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-409X(97)00087-2)
- Zhang, Z., Tang, J., Di, R., Liu, Q., Wang, X., Gan, S. & Chu, M. (2019). Comparative transcriptomics reveal key sheep (*Ovis aries*) hypothalamus lncRNAs that affect reproduction. *Animals*, 9(4):1-16.
- Zhou, Z., Bulgari, O., Vailati-Riboni, M., Trevisi, E., Ballou, M. A., Cardoso, F. C. & Lóor, J. J. (2016). Rumen-protected methionine compared with rumen-protected choline improves immunometabolic status in dairy cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, 99(11):8956-8969.

Recebido: 30 de agosto, 2019.

Aprovado: 7 de novembro, 2019.

Publicado: 31 de novembro, 2019.

Licenciamento: Este artigo é publicado na modalidade acesso aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0), a qual permite uso irrestrito, distribuição, reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte sejam devidamente creditados.