UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

SUPLEMENTAÇÃO COM ANÁLOGO DE METIONINA HMB (2-HIDROXI-4-(METIL) ÁCIDO BUTÂNICO) EM DIETA DE BOVINOS DA RAÇA NELORE TERMINADOS EM CONFINAMENTO

Antônio Humberto Fleury de Melo
Orientador: Prof. Dr. Juliano José de Resende Fernandes

GOIÂNIA
2011

sistema de bibliotecas ufg

UFG

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: **[x] Dissertação** **[ ] Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):	Antônio Humberto Fleury de Melo					
E-mail:	humbertofleury@hotmail.com					
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? [x]Sim [ ] Não						
Vínculo empregatício do autor:	nenhuma					
Agência de fomento:	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico			Sigla:	CNPq	
País:	Brasil	UF:	GO	CNPJ:	33.654.831/0001-36	
Título:	Suplementação com análogo de metionina HMB (2-hidroxi-4-(metil) ácido butânico) em dieta de bovinos da raça Nelore terminados em confinamento					
Palavras-chave:	Bovinos de corte, desempenho, HMTBA, metionina					
Título em outra língua:	Supplementation with HMB (2-hydroxy-4-(methylthio) Butanoic acid) methionine analog in diet of Nellore cattle finished in feedlot					
Palavras-chave em outra língua:	beef cattle, performance, HMTBA, methionine					
Área de concentração:	Produção Animal					
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	07/07/2011					
Programa de Pós-Graduação:	Ciência Animal					
Orientador (a):	Juliano José de Resende Fernandes					
E-mail:	juliano@vet.ufg.br					
Co-orientador (1):	Flávio Augusto Portela Santos – E-mail: fapsanto@esalq.usp.br					
Co-orientador (2)	Milton Luiz Moreira Lima – E-mail: mlmlima2001@yahoo.com.br					

*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

3. Informações de acesso ao documento:
Liberação para disponibilização?[1] [x] total [ ] parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:
[ ] Capítulos. Especifique: _____
[ ] Outras restrições: _____

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.
O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

_____ Data: 12 / 07 / 2011
Assinatura do (a) autor (a)

[1] Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

Antônio Humberto Fleury de Melo

SUPLEMENTAÇÃO COM ANÁLOGO DE METIONINA HMB (2-HIDROXI-4-(METIL) ÁCIDO BUTÂNICO) EM DIETA DE BOVINOS DA RAÇA NELORE TERMINADOS EM CONFINAMENTO

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, junto ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de Concentração:
Produção Animal

Linha de Pesquisa:
Metabolismo animal, alimentação e forragicultura na produção animal

Orientador:
Prof. Dr. Juliano José de Resende Fernandes - UFG

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Flávio Augusto Portela Santos - ESALQ-USP
Prof. Dr. Milton Luiz Moreira Lima - UFG

GOIÂNIA
2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

(GPT/BC/UFG)

Melo, Antônio Humberto Fleury de.
M528s Suplementação com Análogo de Mationina HMB (2-Hidroxi-4-(Metil) Ácido Butânico) em Dieta de Bovinos da Raça Nelore Terminados em Confinamento [manuscrito] / Antônio Humberto Fleury de Melo. - 2011.
61 f. : il.

Orientador (a): Prof. Dr. Juliano José de Resende Fernandes; Co-orientadores: Prof. Dr. Flávio Augusto Portela Santos; Prof. Dr. Milton Luiz Moreira Lima.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás. Mestrado em Ciência Animal, PrPPG, 2011.

Bibliografia: f. 48-61.
Inclui listas de tabelas e figuras.

1. Bovinos de corte. 2. Desempenho. 3. HMTBA. 4. Metionina. I. MELO, Antônio Humberto Fleury de. II. Universidade Federal de Goiás. PrPPG. III. Título.

CDU: 636.084

ANTÔNIO HUMBERTO FLEURY DE MELO

Dissertação defendida e aprovada em **07/07/2011**, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:

Prof. Dr. Juliano José de Resende Fernandes
(ORIENTADOR (A))

Prof. Dr. Sérgio Lúcio Salomon Cabral Filho - UnB/DF

Profa. Dra. Eliane Sayuri Miyagi

DEDICO

Ao meu pai Antônio (Lucas), que não está mais entre nós, mas que mora no meu coração e nos meus pensamentos, que sempre foi meu grande amigo, incentivador dos estudos, meu herói e grande exemplo de homem e pai.

A minha mãe Iva, meu modelo de garra, determinação e coragem, de caráter inigualável, a responsável por tudo que sou, sempre me dando grandes ensinamentos.

A minha esposa Débora, que sempre foi companheira de verdade, amiga de todas as horas, incentivadora, mãe excepcional e amante nota dez.

Ao meu filho Lucas, que sempre esteve do meu lado nas fases boas e ruins, me proporcionando só alegrias e orgulho, me inspirando mesmo sem perceber, na busca de ser cada vez melhor.

A minha filha Maria Eloá, amor da minha vida, linda, maravilhosa, que me proporciona muita paz, alegria e força para enfrentar as dificuldades da vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado saúde e determinação para que pudesse alcançar meus objetivos, tornando meus sonhos em realidade e por ter me dado segurança para enfrentar as dificuldades.

À Universidade Federal de Goiás pela oportunidade de realização do curso de mestrado.

Ao Departamento de Produção Animal pela boa receptividade.

À Novus do Brasil Comércio e Importação Ltda pelo apoio ao trabalho de pesqusa.

Ao Professor Juliano José de Resende Fernandes pela dedicação em minha orientação, paciência, compreensão, sabedoria e fundamentalmente pela amizade e constantes ensinamentos que contribuíram para meu amadurecimento profissional que certamente vou levar para toda minha vida.

Aos meus co-orientadores, Prof. Flávio Augusto Portela Santos e Prof. Milton Luiz Moreira Lima, pela inastimável contribuição em minha formação.

Aos professores dos Programas de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia , por contribuírem na minha formação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos membros da banca examinadora pela atenção e dedicação no exame dessa dissertação.

Aos alunos pós graduandos, Marcondes e Pedro pela dedicada ajuda na condução do experimento de campo.

Aos alunos de graduação André, Gabriel (Costela), Mariana, Vitor (Zé da égua), que de alguma forma contribuíram na realização deste trabalho.

Aos Funcionários Eder, Hélio, Gerson, Cornélio e Reginaldo, pelo auxílio sempre que precisei.

Aos amigos e companheiros de curso, Douglas, Elis, Sérgio, Marcela, Leonardo, Paula, Verônica, Reginaldo, Marcondes, Pedro, Tiago, Neto, Flávia, Barbara, Kíria e Fabiola pela amizade.

Ao Professor Aldi Fernandes de Souza França pelo incentivo, amizade,

pelas palavras sábias, pelos conhecimentos transmitidos e disposição em ajudar sempre.

À Professora Eliane Sayuri Miyagi pela amizade, atenção e disposição em ajudar sempre.

Ao professor Emmanuel Arnhold pela amizade, apoio, atenção, incentivo e disposição em me ajudar sempre foi necessário.

Aos Professores Beneval Rosa, João Teodoro e João Restle pela atenção e generosidade que foram, sem dúvida, imprescindíveis para meu crescimento profissional.

À minha esposa Débora pelo carinho, companheirismo, pelas dicas e principalmente pela determinação em fazer com que eu me sentisse bem, mesmo em momentos dificeis.

Ao meu pai pelos ensinamentos que carrego pra vida toda

À minha mãe pela compreensão e apoio.

Aos meus filhos por me darem força e coragem para recomeçar e seguir em frente.

Muito Obrigado.

“Se seus esforços forem vistos com indiferença,
não desanime. Também o sol, ao nascer, dá
um espetáculo todo especial e, mesmo assim,
a maioria da platéia continua dormindo...”

Edu Francisco Teixeira

SUMÁRIO

Pg.

LISTA DE FIGURAS..... xi

LISTA DE TABELAS..... xii

RESUMO..... xiii

ABSTRACT..... xv

1. INTRODUÇÃO..... 1

2. REVISÃO DE LITERATURA..... 3

2.1. Características das proteínas e aminoácidos..... 3

2.2. Cinética da degradação de proteína no rúmen..... 4

2.3. Importância da proteína microbiana (Pmic)..... 8

2.4. Qualidade da proteína microbiana (Pmic)..... 8

2.5. Absorção intestinal de proteína..... 10

2.6. Balanceamento de aminoácidos..... 11

2.7. Aminoácidos protegidos e análogos..... 12

2.8. Metabolismo de análogos de metionina..... 14

2.9. Degradação ruminal do HMB..... 17

2.10. Doadores de metil..... 18

2.11. HMB e o metabolismo de lipídios..... 21

2.12. Desempenho e características da carcaça de bovinos suplementados com análogos de metionina..... 24

3. OBJETIVOS..... 27

3.1. Objetivo Geral..... 27

3.2. Objetivos específicos..... 27

4. MATERIAL E MÉTODOS..... 28

4.1. Local e animais..... 28

4.1.1. Experimento 1..... 28

4.1.2. Experimento 2..... 28

4.2. Tratamentos..... 28

4.3. Período experimental e coleta de dados..... 29

4.3.1. Experimento 1..... 29

4.3.2. Experimento 2..... 31

4.3.2.1. Preparação dos sacos de TNT e das amostras..... 31

4.3.2.2. Preparação da solução tampão..... 31

4.3.2.3. Coleta, preparação do líquido ruminal e incubação..... 32

4.4. Delineamento experimental e análise estatística..... 34

4.4.1. Experimentos 1 e 2..... 34

4.5. Análises laboratoriais..... 35

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 36

5.1. Experimento 1..... 36

5.1.1. Análises bromatológicas..... 36

5.1.2. Consumo e desempenho..... 36

5.1.3. Características da carcaça..... 41

5.2. Experimento 2..... 42

6. CONCLUSÕES..... 47

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 48

LISTA DE FIGURAS

		Pg.
Figura 1	Estrutura geral dos 20 L-α-AAs encontrados em proteínas. A letra R representa o radical que diferencia cada um desses AAs.....	03
Figura 2	Concentrações de N-amoniacal, pH e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen de bovinos após alimentação	07
Figura 3	Estrutura química da molécula de metionina, HMB e HMBi....	14
Figura 4	Conversão de hidroxi análogo de metionina éster (MHAME) para hidroxi análogo de metionina (MHA) pelos microorganismos do rúmen *in vitro*.....	15
Figura 5	Efeito dos tratamentos na degradabilidade da MS medida nos tempos de incubação (0; 2; 4; 8; 12; 24; 48 horas).....	44
Figura 6	Curva de degradação da MS da dieta contendo níveis crescentes de HMB (0; 5; 10; 15g/animal.dia^{-1}) pelos parâmetros ajustados de ØRSKOV & MAcDONALD (1979)..	46

LISTA DE TABELAS

		Pg.
Tabela 1	Classificação dos 20 L-α-AAs encontrados em proteínas, do ponto de vista da nutrição de animais ruminantes e não ruminantes.....	04
Tabela 2	Comparação dos perfis de aminoácidos essenciais (AAE) dos tecidos corporais e leite de bovinos com os de microrganismos do rúmen e fontes comuns de alimentos para ruminantes	09
Tabela 3	Resumo dos dados de desempenho e caracteísticas da carcaça de bovinos em crescimento e terminação suplementados com metionina.....	25
Tabela 4	Proporções dos ingredientes, expressas na base da matéria seca e percentual de FDN (fibra em detergente neutro), PB (proteína bruta) e NDT (nutrientes digestíveis totais) das rações experimentais.....	29
Tabela 5	Resumo esquemático da análise de variância para os parâmetros avaliados nos experimentos 1.....	34
Tabela 6	Resumo esquemático da análise de variância para os parâmetros avaliados nos experimentos 2.....	35
Tabela 7	Composição bromatotólgica dos ingredientes da ração experimental	36
Tabela 8	Valores médios de consumo e desempenho de bovinos Nelore terminados em confinamento submetidos a níveis crescentes (0, 5, 10, 15g/animal.dia^{-1}) de HMB (DL, 2-hidroxi-4-(metil) ácido butânico) na dieta	37
Tabela 9	Médias das características quantitativas da carcaça de bovinos Nelore submetidos a níveis crescentes (0, 5, 10, 15g/animal.dia^{-1}) de HMB(DL, 2-hidroxi-4-(metil) ácido butânico) na dieta.....	41
Tabela 10	Efeitos da dieta com níveis crescentes (0, 5, 10, 15g/anial.dia^{-1}) de HMB (DL, 2-hidroxi-4-(metil) ácido butânico) na degradabilidade da matéria seca.....	43

RESUMO

Foram realizados dois experimentos com objetivo de avaliar a inclusão de níveis do análogo de metionina HMB (DL, 2-hidróxi-4-(metil) ácido botânico) em dietas de bovinos de corte da raça Nelore terminados em confinamento. Experimento 1: 128 animais da raça Nelore, macho, não castrados, peso inicial de 290 kg (±20,50), foram alojados por 111 dias (21 dias de adaptação e 90 dias de experimento) em 16 baias de 77 m^2, sendo 8 animais/baia. As dietas utilizadas foram isoprotéicas e isoenergéticas, com 16% de proteína bruta (PB) e 70 % de nutrientes digestíveis totais (NDT), compostas de bagaço de cana *in natura* (13,44%), casca de soja (41,67%), milho (18,15%), caroço de algodão (17,47%), farelo de soja (5,38%), melaço (1,34%), uréia (0,67%) e mistura mineral (1,88%), com quatro níveis de inclusão do análogo de metionina HMB. Os tratamentos foram T0 = dieta controle (sem HMB); T5 = dieta com 05 g HMB/animal.dia^{-1}; T10 = dieta com 10 g HMB/animal.dia^{-1}; T15 = dieta com 15 g HMB/animal.dia^{-1}. O delineamento experimental foi o de blocos completos casualizados, onde os animais foram distribuídos nos blocos de acordo com o peso vivo inicial. O peso final, ganho de peso total, ganho de peso médio diário, consumo de matéria seca e o consumo de matéria seca em % do peso vivo não foram alterados pela inclusão de HMB na ração ($p>0,5$). No entanto a conversão alimentar (CA) ($p<0,05$) e a eficiência alimentar (EA) ($p<0,06$) foram afetadas pela inclusão de HMB nas dietas, demonstrando que a inclusão de HMB em nível de 10 g/animal.dia^{-1} é o mais recomendável para se obter melhora tanto na CA quanto na EA para bovinos nestas condições. Não foi observada diferença ($p>0,05$) entre os tratamentos para as características da carcaça, sugerindo que em condições semelhantes a este experimento a inclusão de HMB em rações não afeta as características quantitativas de carcaças. Experimento 2: foi realizado após adaptação à dieta experimental em dez dias por um animal da raça Holandês, macho, com aproximadamente 200 kg de peso vivo, munido de cânula ruminal. Foram realizadas duas coletas de líquido ruminal, com intervalo de uma semana. As amostras foram incubadas por 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48h7 a 39ºC, em meio anaeróbio. Foi adotado delineamento inteiramente casualizado, composto de

quatro tratamentos e quatro repetições. As dietas experimentais e os tratamentos são os mesmos do experimento 1. A fração “a” (de rápida degradação) das dietas experimentais não foi alterada pela inclusão de HMB na ração ($p>0,05$). Em contrapartida a fração “b” (potencialmente degradável) ($p<0,05$), a fração “c” (taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável) ($p<0,05$), a Dp (degradabilidade potencial) ($p<0,01$) e a De (degradabilidade efetiva) à uma taxa de passagem (kp) de 2% por hora ($p<0,01$), à 5% por hora ($p<0,05$) e à 8% por hora ($p<0,01$) foram afetadas pela inclusão de HMB na dieta. Constatou-se que a inclusão de 15g/animal.dia^{-1} de HMB na ração influenciou positivamente a degradabilidade da fração “b” (76,70%) e a degradabilidade potencial (90,60%). No entanto a degradabilidade efetiva à Kp 2 e 5%h foram favorecidas para todos os tratamentos que incluíam HMB, já para Kp 8%h, as inclusões de 5 e 10 g/animal.dia de HMB foram superiores aos demais tratamentos ($p<0,01$). Os resultados sugerem que HMB tem potencial para ser utilizada para melhorar a degradabilidade de dietas de alto concentrado semelhante à deste experimento.

Palavras-chave: bovinos de corte, desempenho, HMTBA, metionina

ABSTRACT

Two experiments were conducted to evaluate the inclusion of levels of HMB (DL, 2-hydroxy-4-(methyl) botanical acid) methionine in diets of Nellore beef cattle finished in feedlot. In Experiment 1, 128 male, unneutered Nellore animals, with initial weight of 290 kg (± 20,50), were housed for 111 days (21 days of adaptation and 90 days of experiment) in 16 pens of 77 m^2 with eight animals per pen. Isonitrogenous isocaloric diets, presenting 16% crude protein (CP) and 70% total digestible nutrients (TDN), constituted of fresh sugar cane bagasse (13.44%), soybean hulls (41.67%), corn (18,15%), cottonseed (17,47%), soybean (5,38%), molasses (1,34%), urea (0,67%) and mineral mixture (1,88%), with four levels of HMB methionine analog inclusion were used. The treatments were T0 = control diet (no HMB), T5 = diet with 05 g HMB/animal.day^{-1}; T10 = diet with 10 g HMB/animal.day^{-1}; T15 = diet with 15 g HMB/animal.day^{-1}. The experimental design was a randomized complete block, being the animals divided into blocks according to the initial weight. Final weight, total weight gain, average daily weight gain, dry matter intake and dry matter intake as % of body weight were not altered by inclusion of HMB in the diet ($p>0,5$). However, feed conversion (FC) ($p<0,05$) and feed efficiency (FE) ($p<0,06$) were affected by the inclusion of HMB in the diet, demonstrating that the inclusion of 10 g / animal.day^{-1} of HMB is the most recommended level to improve both FC and FE in cattle under these conditions. No difference was observed ($p>0,05$) among treatments for carcass characteristics, suggesting that under similar conditions to this experiment the inclusion of HMB in the diet does not affect the carcass quantitative characteristics. Experiment 2: was performed after adaptation to the experimental diet for ten days in a male Holstein animal, with approximately 200 kg of live weight with rumen cannula. Two samples of rumen fluid were collected with one week interval between each one. The samples were incubated for 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48 hours at 39°C in anaerobic conditions. A completely randomized design with four treatments and four replications was used. Diets and treatments were the same employed in Experiment 1. Fraction “a” (rapid degradation) of experimental diets was not altered by HMB inclusion ($p>0,05$). In contrast, fraction “b”

(potentially degradable) ($p<0,05$), fraction “c” (hourly rate of degradation of potentially degradable fraction) ($p<0,05$), Dp (potential degradability) ($p<0,01$) and De (effective degradability) to a passage rate (kp) at 2% per hour ($p <0,01$), 5% per hour ($p<0.05$) and 8% per hour ($p<0,01$) were affected by the inclusion of HMB in the diet. It was found that the inclusion of 15g/animal.day^{-1} of HMB in the diet positively influenced the degradability of fraction “b” (76,70%) and the potential degradability (90,60%). However, the effective degradability at Kp 2 and 5% h were favored for all treatments that included HMB, while at Kp 8% h, the inclusions of 5 and 10 g/animal.day^{-1} HMB showed higher results than other treatments ($p<0,01$). These results suggest that HMB has the potential to improve the degradation of high concentrate diets similar to this experiment.

Keywords: beef cattle, HMTBA, methionine, performance

1. INTRODUÇÃO

As estimativas de exigências de proteína para bovinos, até o final da década de 70, eram feitas somente com base em compilações e comparação de dados obtidos de ensaios de alimentação em que eram medidos desempenho e digestibilidade. A partir de então, iniciaram tentativas de fazer essas estimativas usando dados derivados de ensaios de metabolismo por meio, principalmente, do método fatorial.

Os resultados não foram animadores devido à falta de informações em quantidade e qualidade necessárias para estabelecer conceitos e princípios sólidos sobre nutrição protéica, bem como, gerar coeficientes confiáveis para os parâmetros das equações para estimar: a disponibilidade de proteína no intestino; a eficiência de utilização da proteína disponível em termos de absorção e valor biológico; e as necessidades de proteína para as funções de mantença e produção (BOIN et al.,2004).

Em 1996, o Subcomitê em Nutrição de Bovinos de Corte do Conselho Nacional de Pesquisa dos Estados Unidos lançou a sétima edição revisada das exigências de nutrientes de bovinos de corte – *Nutrient requeriments of beef catle* (NRC, 1996) e, dentre as mais marcantes mudanças dessa revisão, pode ser citada a melhor caracterização dos alimentos, com relação à composição e à taxa de degradação das frações de nitrogênio (N) e carboidratos, com a intenção de separar essas frações para definir uma estimativa de suprimento de proteína metabolizavel (PM) para o intestino delgado. Atualmente o sistema de Cornell "Cornell Net Carbohydrate and Protein System-CNCPS", o NRC (2001) e alguns outros sistemas já permitem que se formulem rações com base no perfil de aminoácidos essenciais (AAE) na PM.

Embora cada um dos 10 AAE em ruminantes tenha sido citado como limitante, em alguns estudos metionina (Met) e lisina (Lis) são os mais freqüentemente considerados como potencialmente limitantes para bovinos leiteiros e de corte.

A metionina tem sido reconhecida como um aminoácido importante na produção animal. Grande parte dos estudos sobre metionina na produção animal começaram nas indústrias de aves e suínos. Atualmente identificada como

importante na nutrição de ruminantes, a metionina é um AAE que muitas vezes limita o crescimento de ruminantes (RICHARDSON & HATFIELD, 1978) e tem sido apontada como um dos dois aminoácidos limitantes nas dietas de vacas leiteiras (SCHWAB et al., 1992) e como sendo o primeiro AA limitante para bovinos em crescimento alimentados com dietas a base de casca de soja (GREENWOOD & TITGEMEYER, 2000). Embora encontrado naturalmente em grãos e forragens, a metionina é insuficiente na dieta típica (milho, soja e forragem), que é administrada à animais ruminantes.

Desta forma, para atender as exigências de aminoácidos (AAs) dos bovinos, existem duas opções: a primeira é baseada no balanceamento com os AAs dos alimentos disponíveis para a absorção intestinal (sem desconsiderar as implicações do metabolismo da proteína inerente aos ruminantes) e a segunda opção é a utilização de AAs protegidos ou análogos de AAs (ALVES, 2004).

Apesar de respostas positivas em animais de alta produção ao uso de AAs protegidos, tem sido discutida a dificuldade da operacionalidade de fornecimento deste produto em sistemas comerciais de produção, devido ao risco de ruptura na película protetora que reveste os AAs durante o processo de manuseio e mistura dos ingredientes da ração total. Considerando isso, a busca por fontes de AAs de menor custo, tem crescido nos últimos anos os trabalhos com análogos de AAs como o HMB (DL, 2-hidróxi-4-(metil) ácido botânico).

Estudos incluindo HMB nas dietas de bovinos leiteiros e corte têm apresentado resultados diversos no que diz respeito aos benefícios da suplementação. Análogos de metionina tem sido estudado extensivamente para bovinos leiteros e foi demonstrado aumento na produção de leite e porcentagem de gordura do leite (NRC, 2001; St-PIERRE & SYLVESTER, 2005). Há muita especulação se o uso de HMB poderia atuar como um doador de grupo metil, mecanismo que poderia melhorar a síntese de gordura intramuscular e subcutânea, no entanto, existem poucos dados para apoiar esta teoria.

Tendo em vista as considerações precedentes, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito da inclusão do análogo de metionina HMB (DL, 2-hidróxi-4-(metil) ácido botânico) na ração de bovinos da raça Nelore terminados em confinamento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Características das proteínas e aminoácidos

De acordo com LEHNINGER et al. (1999), proteínas são as macromoléculas mais abundantes presentes nas células, com funções diversas como: componentes estruturais, funções enzimáticas e hormonais, recepção de estímulos hormonais e armazenamento de informações genéticas. As proteínas são compostas por polímeros de AAs unidos por ligações peptídicas (proteínas simples), também ocorrem no organismo as chamadas proteínas conjugadas, ou seja, que contêm além dos AAs, outros compostos como grupo heme (hemoproteínas), lipídeos (lipoproteínas) e açúcares (glicoproteínas).

Ocorrem na natureza aproximadamente 300 AAs distintos, desses apenas 20 estão presentes nas proteínas de microrganismos, plantas e animais. Todos esses AAs contêm um grupamento carboxílico (COOH) e um grupamento amino (NH_3^+) funcionais ligados ao carbono α (Figura 1) e possuem as configurações absolutas do L-gliceraldeído e, portanto, são L-α-AAs (LEHNINGER et al., 1999).

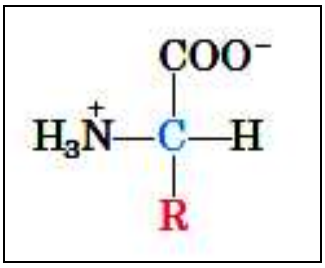

FIGURA 1. Estrutura geral dos 20 L-α-AAs encontrados em proteínas. A letra R representa o radical que diferencia cada um desses AAs

Do ponto de vista de nutrição de animais ruminantes e não ruminantes, os 20 L-α-AAs presentes nas proteínas podem ser classificados em AAs “essenciais” e “não essenciais” (Tabela 1), devendo constar da dieta (NRC, 2001). A síntese desses AAs “essenciais” não ocorre nos tecidos de maneira adequada para atender as necessidades metabólicas, ou não são sintetizados pelo organismo, ou o são, porém em quantidades insuficientes (arginina e histidina), principalmente nas fases iniciais do crescimento ou para atender altos níveis de

produção. Já os AAs “não essenciais”, ao contrário, são sintetizados pelos tecidos em quantidades que satisfazem as exigências do metabolismo (NRC, 2001).

TABELA 1. Classificação dos 20 L-α-AAs encontrados em proteínas, do ponto de vista da nutrição de animais ruminantes e não ruminantes

Aminoácidos essenciais	Aminoácidos não essenciais
Arginina (Arg)	Alanina (Ala)
Histidina (His)	Ácido aspártico (Á. Asp)
Isoleucina (Ile)	Asparagina (Asp)
Leucina (Leu)	Cisteína (Cis)
Lisina (Lis)	Ácido glutâmico (Á. Glut)
Metionina (Met)	Glutamina (Glu)
Fenilalanina (Phe)	Glicina (Gli)
Treonina (Thr)	Prolina (Pro)
Triptofano (Trp)	Serina (Ser)
Valina (Val)	Tirosina (Tir)

Fonte: Adaptado do NRC (2001)

O teor de AAE e a proporção entre esses AAs na proteína metabolizável (PM) no intestino determinam a eficiência de utilização dessa proteína pelo ruminante. Quando a PM é de alta qualidade (rica e com o perfil adequado em AAE), o teor de proteína bruta (PB) da ração pode ser reduzido, a eficiência de utilização da PM é otimizada, a excreção de uréia e de outros compostos nitrogenados é reduzida e o desempenho animal é maximizado (SANTOS, 2006).

2.2. Cinética da degradação de proteína no rúmen

A degradação ruminal da proteína dietética constitui importante fator que influencia a fermentação ruminal e o suprimento intestinal de AAs para os ruminantes. A proteína degradável no rúmen (PDR) e não-degradável no rúmen (PNDR) são constituintes dietéticos que possuem diferentes funções. A PDR dá origem a peptídeos, AAs livres e amônia para o crescimento microbiano,

enquanto a PNDR disponibiliza peptídeos e aminoácidos no intestino (NRC, 1996 e NRC, 2001).

A proteína microbiana (Pmic) é, normalmente, a principal fonte de proteína metabolizável (PM) para os ruminantes. A PNDR é a segunda fonte, seguida da proteína endógena, os quais terão como destino o atendimento das exigências do animal (NRC, 1996).

Os métodos para se avaliar a degradabilidade ruminal da proteína incluem procedimentos *in vivo* (experimento com animais), técnica *in situ* (dos sacos móveis no rúmen) e técnicas *in vitro* (NRC, 2001). Os modelos que descrevem a degradação ruminal de proteína assumem que a PB dos alimentos consiste de diversas frações com diferentes taxas de degradação e que o desaparecimento ruminal da proteína ocorre por meio dos processos de passagem e degradação (AFRC, 1993; NRC, 1996; NRC, 2001).

O modelo mais usado no mundo todo adota dados de degradação ruminal *in situ* e divide a proteína em três frações (A, B e C). Esse modelo é adotado pelo NRC de gado de corte (1996) nível 1 e de leite, NRC (2001). A fração A é representada pelo nitrogênio não protéico (NNP) e uma pequena porção de proteína verdadeira (PV) de alta solubilidade e é considerada 100% degradável no rúmen e obtida no tempo zero de incubação. A fracão C é totalmente não degradável no rúmen e intestino. Esta fração é obtida após 48 (alimento concentrados) ou 72 horas de incubação (forragens) conforme recomenda o NRC (2001). A fração B é obtida por diferença (100 – (A+C)) e é potencialmente degradável no rúmen, sendo a única fração afetada pela taxa de passagem (Kp).

Na edição do NRC (1989), a PNDR do alimento era considerada constante e não variava com a ingestão de matéria seca (MS). No NRC (2001), de acordo com as equações sugeridas, a PDR e a PNDR são consideradas variáveis em função das constantes Kd (taxa de degradação) e Kp (taxa de passagem). Após a determinação das frações A, B e C, dos Kp e Kd da fração B, é possível o cálculo das frações PDR e PNDR da PB dos alimentos a partir da fórmula:

$$PDR = A + B\,[Kd/(Kd + Kp)]$$

$$PNDR = B\,[Kp/(Kd + Kp)] + C$$

O modelo de Cornell (CNCPS) é um sistema dinâmico que adota um procedimento mais complexo para determinar a PDR e PNDR dos alimentos. Esse modelo utiliza reagentes químicos para determinar as frações, que neste caso são cinco: A, B1, B2, B3 e C. A fração A é constituída de NNP e assume-se que essa fração é solubilizada instantaneamente e o seu Kd tende ao infinito. A fração C é representada pelo nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA), e não é degradada no rúmen e indigestível nos intestinos. A fração B restante representa a fração potencialmente degradável e é dividida em três frações de acordo com suas taxas de degradação, sujeitas aos efeitos das taxas de passagem comuns para essas três frações. A fração B1 representa a fração protéica do alimento rapidamente degradada no rúmen, B2 constitui a fração de degradação intermediária e B3 a fração lentamente degradada no rúmen (SNIFFEN et al., 1992).

A fração A do sistema de Cornell (CNCPS) é totalmente degradada no rúmen e o Kd das frações B1 (120% a 400%/h), B2 (3% a 16%/h) e B3 (0,06 a 0,55%/h) e a fração C (não degradável no rúmen) são determinadas após incubação *in vitro* com proteases. SNIFFEN et al. (1992) explicam que para se calcular a degradação ruminal (DR) das frações B1, B2, B3 utiliza-se a seguinte fórmula: DR = Kd/(Kd + Kp). Já a fração que escapa da degradação ruminal é calculada por Kp/(Kd+Kp).

A fração PDR e PNDR da PB do modelo Cornell (CNCPS) é calculada com a formula:

PDR = A + B1 [KdB1/(KdB1+Kp)] + B2 [KdB2/(KdB2+Kp)] + B3 [KdB3/KdB3+Kp)]

PNDR = B1 [Kp/(KdB1+Kp)] + B2 [Kp/(KdB2+Kp)] + B3 [Kp/KdB3+Kp)] + C

O Agricultural and Food Research Council - AFRC (1993) considera quatro frações para a proteína: a fração rapidamente degradada no rúmen é definida como A, a fração lentamente degradada no rúmen é B, a proteína não degradada no rúmen é calculada por 1 - (A+ Bc/c + k) e a PNDR indigestível é equivalente ao NIDA. Os parâmetros “c” e “k” correspondem às taxas de digestão e de passagem da fração B, respectivamente. Além disso, o AFRC (1993) pondera que a eficiência de captação dos compostos nitrogenados rapidamente degradados no rúmen pelos microrganismos é de 80% e, considera a proteína efetivamente degradada no rúmen (PEDR) = 0,8A + Bc/c + k.

De acordo com OWENS & ZINN (1988) a amônia presente no rúmen é produto da degradação da PV da ração, do NNP da ração, do N reciclado para o rúmen na forma de uréia e da degradação das células microbianas mortas no rúmen. O pico de amônia no rúmen após a alimentação depende das fontes de N presentes na ração. Quando a uréia é fornecida, o pico de amônia ocorre normalmente uma a duas horas após a alimentação. Para fontes de PV, esse pico ocorre ao redor de três a cinco horas após a alimentação, dependendo da degradabilidade ruminal dessas fontes (Figura 2).

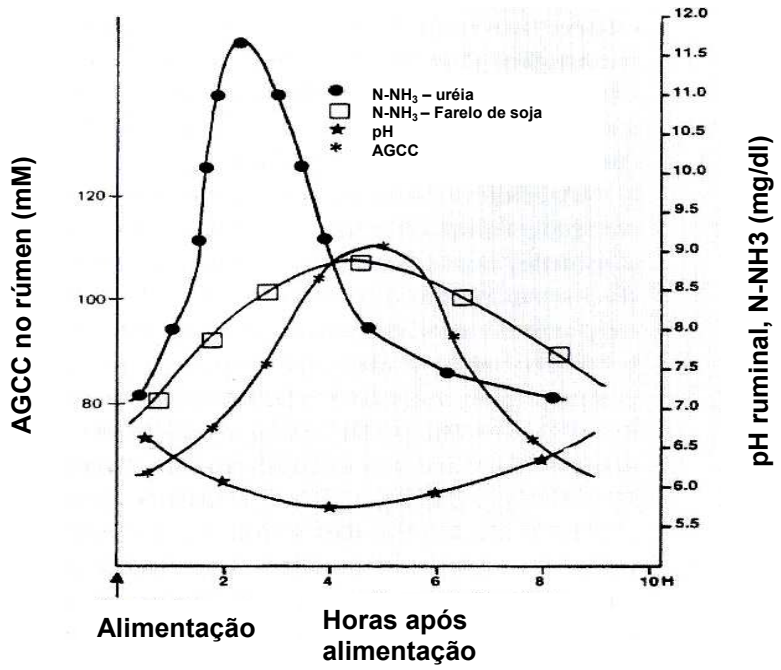

FIGURA 2. Concentrações de N-amoniacal, pH e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen de bovinos após alimentação
Fonte: OWENS & ZINN (1988).

A eficiência da utilização da amônia pelos microrganismos para a síntese microbiana depende, entre outros fatores, principalmente da disponibilidade de energia no rúmen (OWENS & ZINN, 1988).

O NRC (1996) recomenda que o teor de NNP de uma dieta não ultrapasse 60% do total de PDR, pois caso o NNP seja muito elevado, pode haver sobra de amônia no rúmen (a taxa de degradação é muito elevada), a qual será absorvida e transformada em uréia no fígado, com gasto de energia. Além disto, existe o risco potencial de intoxicação do animal.

2.3. Importância da proteína microbiana (Pmic)

A Pmic é normalmente a principal fonte de PM para ruminantes, na maioria das situações produtivas. Ela pode representar ao redor de 45% a 55% da PM no intestino de vacas leiteiras de alta produção, 55% a 65% em bovinos de corte confinados com rações ricas em energia e mais de 65% em bovinos mantidos exclusivamente em pastagens (SANTOS, 2006).

Entretanto, ZINN (2007) pondera que, do ponto de vista prático, para fins de formulação de rações, é mais provável que dietas para bovinos de corte confinados sejam deficientes em AAs metabolizáveis apenas durante o período inicial de adaptação e na fase inicial de crescimento, uma vez que durante esse período, o consumo de alimento é baixo em relação ao potencial genético dos animais para crescimento e, portanto, maior importância é dada aos AAs provenientes da PNDR para satisfazer as exigências para ganho máximo (aminoácidos microbianos têm papel importante, porém menor). Durante o final da fase de crescimento e a fase de terminação, quando o consumo de alimentos é maior, os AAs microbianos terão papel preponderante no atendimento dessas exigências, de maneira tal que o conteúdo de PDR da dieta passa a ser o único fator importante da nutrição protéica a ser considerado.

Alguns trabalhos conduzidos no Brasil (PIRES et al., 2004; OLIVEIRA JUNIOR et al., 2006; FERNANDES et al., 2009) confirmam o explanado por ZINN (2007). Neste contexto, todo e qualquer programa nutricional só terá sucesso se a produção de Pmic for maximizada, ou seja, manipulações de ração que resultem em redução na síntese microbiana, normalmente, comprometem performance animal. O desempenho pior pode ocorrer em razão da redução da fermentação ruminal, com efeitos negativos no consumo de alimento e, portanto, na disponibilidade de energia para o animal, como também pela redução na qualidade e/ou quantidade da PM disponível no intestino (SANTOS, 2006).

2.4. Qualidade da proteína microbiana (Pmic)

Conforme foi esclarecido por SANTOS (2006), a exigência metabólica de proteína por ruminantes não é por PB, NNP, PDR ou PNDR, mas sim por AAs.

As células dos tecidos dos ruminantes necessitam de AAs para o seu metabolismo. Dessa forma, os AAs devem estar disponíveis para o metabolismo dos tecidos em quantidades e proporções adequadas para eficiência máxima.

Para avaliar a qualidade da proteína para ruminantes, pode-se comparar o perfil de AAE da proteína alimentar com o perfil dos mesmos na proteína do leite (para vacas em lactação) ou tecido muscular (para animais em crescimento e terminação) (NRC, 1996; NRC, 2001). Na Tabela 2, observa-se que, a Pmic é superior em relação às fontes protéicas comercialmente utilizadas, principalmente em relação aos AAs lisina e metionina, os mais limitantes para a produção de carne e leite (SANTOS, 2006).

TABELA 2. Comparação dos perfis de aminoácidos essenciais (AAE) dos tecidos corporais e leite de bovinos com os de microrganismos do rúmen e fontes comuns de alimentos para ruminantes

Item	Arg	His	Ile	Leu	Lis	Met	Phe	Thr	Trp	Val
	AAE na Proteína Bruta (%)									
Tecido Muscular	16.8	6.3	7.1	17.0	16.3	5.1	8.9	9.9	2.5	10.1
Leite	7.2	5.5	11.4	19.5	16.0	5.5	10.0	8.9	3.0	13.0
Bactérias	10.3	4.2	11.6	15.9	16.6	5.1	10.1	11.3	2.6	12.4
Protozoários	9.3	3.6	12.7	15.8	20.6	4.2	10.7	10.5	2.8	9.7
Feno de alfafa	12.5	4.7	10.3	17.9	12.4	3.8	11.6	10.6	3.6	12.7
Silagem de milho	6.2	5.7	10.6	27.2	7.9	4.8	12.1	10.1	1.4	14.1
Feno de gramínea	11.7	4.9	10.0	18.8	10.5	3.9	11.8	10.9	3.7	13.6
Silagem gramínea	9.4	5.1	10.9	18.8	10.1	3.7	13.4	10.2	3.3	15.0
Milho quebrado	11.5	7.8	8.2	27.9	7.1	5.3	11.5	8.8	1.8	10.0
Sorgo (grão)	9.4	5.7	9.3	31.9	5.4	4.2	12.3	7.8	2.5	11.6
Trigo (grão)	13.6	7.1	9.6	19.3	8.1	4.6	13.3	8.4	3.5	12.3
Farelo de algodão	26.0	6.6	7.3	13.8	9.7	3.7	12.5	7.6	2.8	10.0
Farelo de soja	16.2	6.1	10.1	17.2	13.9	3.2	11.6	8.7	2.8	10.2
Farelo de girassol	20.8	6.2	9.9	15.2	8.0	5.6	11.0	8.7	2.9	11.7
Farinha de sangue	7.8	11.3	2.2	22.7	15.9	2.1	12.1	7.7	2.8	15.4
Farinha de peixe	13.1	6.4	9.2	16.2	17.2	6.3	9.0	9.4	2.4	10.8

Arginina (Arg); Histidina (His); Isoleucina (Ile); Leucina (Leu); Lisina (Lis); Metionina (Met); Fenilalanina (Phe); Treonina (Thr); Triptofano (Trp); Valina (Val)
Fonte: Adaptado do NRC (2001).

Diante do que foi discutido, fica clara a importância de se maximizar a síntese de Pmic no rúmen, pois isto representa uso eficiente da PDR, menor perda de amônia e menor excreção de uréia, menor necessidade de PNDR na ração e maior fluxo de proteína metabolizável com melhor perfil de aminoácidos essenciais para o intestino (SANTOS, 2006).

2.5. Absorção intestinal de proteína

As fontes de proteína que chegam ao intestino dos ruminantes são a Pmic, PNDR e proteína endógena. A mistura de AAs provenientes da digestão dessas fontes é denominada proteína metabolizável (PM) (SANTOS, 2006).

Considerando que as dietas são formuladas para que os AAs da PNDR possam completar os AAs de origem bacteriana, a composição de AAs das bactérias ruminais deve ser determinada (CLARK et al., 1992). Estes autores não recomendaram a utilização de valores médios da literatura para se estimar o fluxo de proteína bacteriana para o duodeno, em virtude da grande variação na composição das mesmas. Mesmo assim, para efeitos práticos, composições fixas de AAs bacterianos são utilizadas (RULQUIN & VÉRITÉ, 1993; SCHWAB, 1996).

Com relação à absorção dos AAs bacterianos no intestino delgado, o AFRC (1993) utiliza um valor de 85%. O CNCPS de Cornell considera que a Pmic contém apenas 60% de PV com 100% de digestibilidade, ou seja, o teor de PM na Pmic é de 60%. Para o cálculo da contribuição da PNDR para a PM, este sistema considera valores de digestibilidade intestinal de 100% para as frações B1 e B2, 80% para a fração B3 e 0% para a fração C. O NRC (2001) considera que o conteúdo de PV na Pmic é de 80% e sua digestibilidade intestinal é igualmente de 80%, ou seja, o teor de PM na Pmic é de 64%. Neste modelo, a proteína endógena contém 50% de PV com digestibilidade de 80%. Já a PNDR é considerada 100% proteína verdadeira, com digestibilidade variando de 50% a 100% dependendo da fonte protéica. O NRC (1996) não considera a proteína endógena e assume valor constante de digestibilidade da PNDR de 80%.

2.6. Balanceamento de aminoácidos

Os conhecimentos atuais sobre AAs limitantes em diferentes situações produtivas de ruminantes são muito restritos e pouco esclarecedores. Existe uma falta clara de informação para se determinar com precisão os efeitos dos AAs nos modelos utilizados para prever os resultados produtivos das rações de ruminantes, tal como é possível realizar no caso de monogástricos (ALVES, 2004)

Atualmente o sistema Cornell (CNCPS), o NRC (2001) e alguns outros sistemas já permitem que se formulem rações com base no perfil de AAE na PM.

FOX & TEDESCHI (2003) ressalta que na prática tem-se enfatizado que metionina (Met) e lisina (Lis) são os AAs mais freqüentemente considerados como limitantes para bovinos, e que a suplementação destes aumentam a produção de leite e síntese de proteína. Entretanto, segundo estes mesmos autores, alguns experimentos têm mostrado que a inclusão de histidina (His) também aumenta a produção de leite em dietas à base de silagem de capim, necessitando assim, de se modelar o efeito dos AAE no desempenho animal e não apenas grupos de AAs.

Segundo SCHINGOETHE (1996), a His parece ser o AA limitante depois da Lis e Met, sendo que a carnosina pode atuar como fonte de His, o que reduz sua limitação. ROBINSON et al. (1998) e XU et al. (1998) concluíram que, em rações a base de silagem de gramíneas, a His pode ser mais limitante que Lis e Met. Alguns estudos indicam também que, a arginina (Arg) (XU et al., 1998) e fenilalanina (Phe) (NICHOLS et al., 1998), em rações a base de silagem de milho e feno de alfafa, são claramente limitantes além da Lis e Met.

Em relação aos efeitos da adição de Lis e Met, muitos trabalhos têm sido realizados estudando o efeito dose/resposta a fim de propor um valor de recomendação prática. RULQUIN (1992) e RULQUIN & VÉRITÉ (1993), a partir dos dados de 57 trabalhos com 164 rações em que foram utilizados diferentes níveis de Lis e Met, concluíram que a relação dose/resposta produtiva é ótima quando se tem as doses de Lis e Met, respectivamente de 7,3% e 2,5% na PM, relação 3:1. Relações Lis:Met inferiores a 3:1 na PM têm se mostrado prejudiciais ao desempenho de vacas leiteiras (NRC, 2001).

De acordo com SANTOS (2006), pesquisas nos Estados Unidos e na

França tem mostrado que a suplementação com Lis e Met protegidas, para balancear esses AAs em valores pouco abaixo do ótimo, no caso, em 6,6% de Lis e 2,2% de Met na PM quando se utiliza o NRC (2001) ou 6,83% de Lis e 2,19% de Met na PM, quando se utiliza o sistema de Cornell (CNCPS), já é capaz de aumentar significativamente tanto a produção de leite quanto o teor de proteína do leite, de forma economicamente viável.

Por outro lado, CHALUPA & SNIFFEN (1991) concluíram que as respostas máximas são obtidas com 16-30 g/dia^{-1} de Lis e 10-15 g/dia^{-1} de Met. SCHWAB (1996), analisando dados anteriores e seus próprios dados, estimou que as exigências de Lis e Met, expressas em percentual de AAE totais que chegam ao duodeno, correspondem a valores de 15 e 5%, respectivamente.

Para calcular as percentagens de Lis e Met no total de AAE que chegam ao duodeno, SCHWAB (1996) desenvolveu equações para Lis e Met, com r^2 de 0,82 e 0,55, respectivamente. Desta forma, pode-se calcular os níveis de Lis e Met nas rações e decidir sobre a conveniência de suplementar ou não com estes AAs. ROBINSON et al. (1998), no entanto, utilizando as equações propostas por SCHWAB (1996), não observaram resultados produtivos satisfatórios quando usaram suplementação de Lis entre 13 e 15% dos AAs essenciais, por meio da adição de Lis protegida (LisP). Os autores concluíram que, em rações de silagem de gramíneas, poderiam ser outros os AAs limitantes e sugeriram que a deficiência de His pode ser maior que a de Lis.

Poucos trabalhos sobre balanceamento de AAE têm sido conduzidos com bovinos de corte.

2.7. Aminoácidos protegidos e análogos

O Interesse em proteger Met livre da degradação ruminal remonta da década de 60 e início dos anos 70, quando estudos de perfusão intravenosa do abomaso e intestino evidenciaram que o perfil de Met absorvida nem sempre foi adequada em ruminantes (CHALUPA, 1975; SCHWAB, 1995). Esses testes indicaram que AAs sulfurados, foram claramente os primeiros limitantes para o crescimento de lã, ganhos de peso de ovinos e também para o crescimento de bovinos e produção de vacas em lactação. Assim, vários laboratórios começaram

a elaborar procedimentos para a proteção da degradação ruminal de Met (CHALUPA, 1975). Posteriormente, houve o interesse em proteger também a Lis, quando foi descoberto que esta era o segundo AA limitante para o crescimento de cordeiros, bovinos e produção de vacas leiteiras (CHALUPA, 1975; SCHWAB, 1995).

Muitas abordagens foram feitas objetivando proteger fisicamente Met e Lis da degradação ruminal. Tentativas iniciais se focaram em proteger Met com lipídios, em combinação com materiais inorgânicos e carboidratos como estabilizantes, agentes emolientes e enchimentos (SCHWAB, 1995). Em 1960, no Canadá, foi desenvolvido um produto no qual um núcleo de DL-Met, caulim coloidal e triestearina foi envolvido por uma película de triestearina. Alguns anos mais tarde, foi produzido na Noruega um produto um pouco mais eficaz (Ketionin®), que apresentou maior liberação intestinal dos encapsulados de Met. O produto continha 30% de DL-Met, 2% de glicose, 4% estabilizante, antioxidantes e agentes aromatizantes, 6% $CaCO_3$, 58% e triestearina e ácido oléico. Vários outros produtos de Met protegida com lipídios também foram avaliados (SCHWAB, 1995).

Mais recentemente, algumas tecnologias foram desenvolvidas para possibilitar a proteção do AA, destacando a proteção pelo revestimento da superfície do AA com uma mistura de ácido graxo/polímeros sensíveis ao pH (Smartamine^{TM}) e a proteção através do revestimento com matrizes envolvendo gordura ou ácidos graxos saturados, etil celulose e minerais (Mepron®) (GRECO, 2008).

Outro método que tem sido explorado para aumentar a oferta de Met para ruminantes é o uso de análogos de Met. Análogos de AAs são gerados a partir da substituição do grupo amino do AA com um grupo de não-nitrogenado, como um grupo hidroxila. O mais estudado análogo de AA é a metioniana hidroxi analógo (MHA) ou mais apropriadamente chamado de 2-hidróxi-4-(metil) ácido botânico (HMB). Estudos indicam que o HMB livre é mais resistente a degradação ruminal que a Met livre (Figura 3), podendo ser absorvido pelo rúmen e omaso através da difusão passiva, e que os ruminantes possuem as enzimas para a conversão de HMB a Met. Pesquisas do final da década de 90 demonstraram que os ésteres de vários HMB's melhoraram a taxa de passagem

ruminal do HMB (ROBERT et al. 2001; SCHWAB et al., 2001).

Mais recentemente foi desenvolvido o ester isopropílico do HMB (HMBi). Tem sido observado que parte deste produto é absorvido através da parede do rúmen sem sofrer degradação ruminal, constituindo-se em fonte de Met para ruminantes. Apesar do número ainda restrito de trabalhos, o HMBi (Figura 3) parece ser uma fonte propícia para aumentar o suprimento de Met para vacas de alta produção, (NOFTSGER et al., 2005; St-PIERRE & SILVERTER, 2005; RULQUIN et al., 2006).

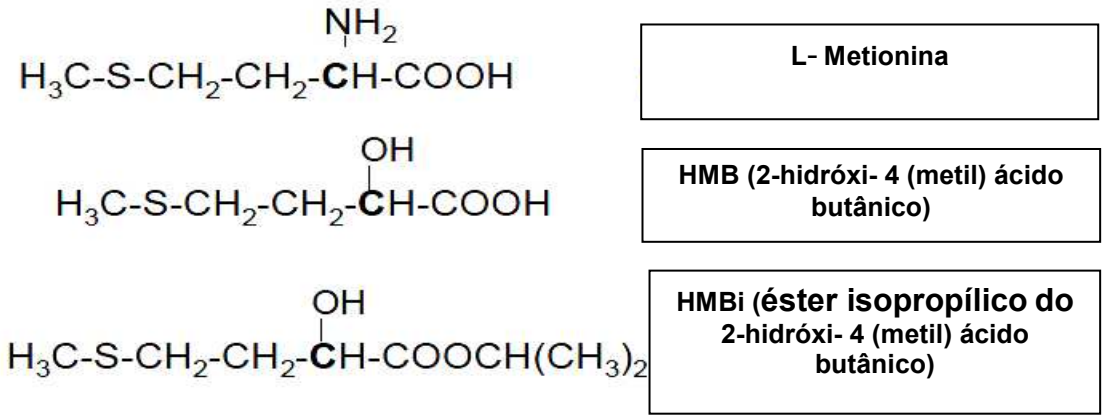

FIGURA 3 – Estrutura química da molécula de metionina, HMB e HMBi
Fonte: Adaptado de PATTERSON & KUNG (1988).

2.8. Metabolismo de análogos de metionina

A suplementação de dietas para ruminantes com quantidades fisiológicas de AAs livres não obtiveram sucesso, porque AAs livres são degradados rapidamente no rúmen. Análogos de Met demonstraram *in vitro e in vivo* ser degradados mais lentamente que a Met, neste sentido, análogos de Met tem sido estudado extensivamente objetivando esta substituição (PATTERSON & KUNG, 1988).

Os efeitos no rúmen e nos tecidos foram demonstrados, mas o modo exato de ação da Met e seus análogos não é conhecido. Análises ruminais têm mostrado aumento na síntese de proteína bacteriana, no número de protozoários, na síntese de lipídios no rúmen, na digestão de fibras e nas mudanças nos padrões dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (ARAMBEL et al., 1987).

Segundo PATTERSON & KUNG (1988), os hidroxi análogos de

metionina (MHA) atuam de duas maneiras: 1) resistindo à degradação ruminal e aumentando a oferta de Met nos tecidos e 2), alterando o metabolismo no rúmen durante um período prolongado, devido à sua menor disponibilidade.

A menor taxa de degradação do HMB pode ser benéfica, pois pode aumentar a chance de HMB ser absorvido fora do rúmen, em vez de ser utilizados por microorganismos ruminais (PATTERSON & KUNG, 1988). De acordo com estes autores, a ordem decrescente das taxas de desaparecimento no rúmen da Met, HMB e seus derivados foi da ordem de: > MHAME (hidroxi análogo de metionina metil éster) > MHAEE (hidroxi análogo de metionina etil éster) > L-Met > HMB (DL, 2-hidróxi-4-(metil) ácido botânico) > MHAN (hidroxi análogo de metionina sal de amônio) > MHAA (hidroxi análogo de metionina amida). As taxas de desaparecimento ruminal foram maiores para MHAME e MHAEE, com o éster metílico desaparecendo mais ($P<0,05$) rapidamente. Entretanto, a concentração de HMB nestas culturas aumentou rapidamente, indicando que estas ligações éster eram facilmente quebradas por microorganismos ruminais e estes compostos são rapidamente convertidos em HMB (Figura 4).

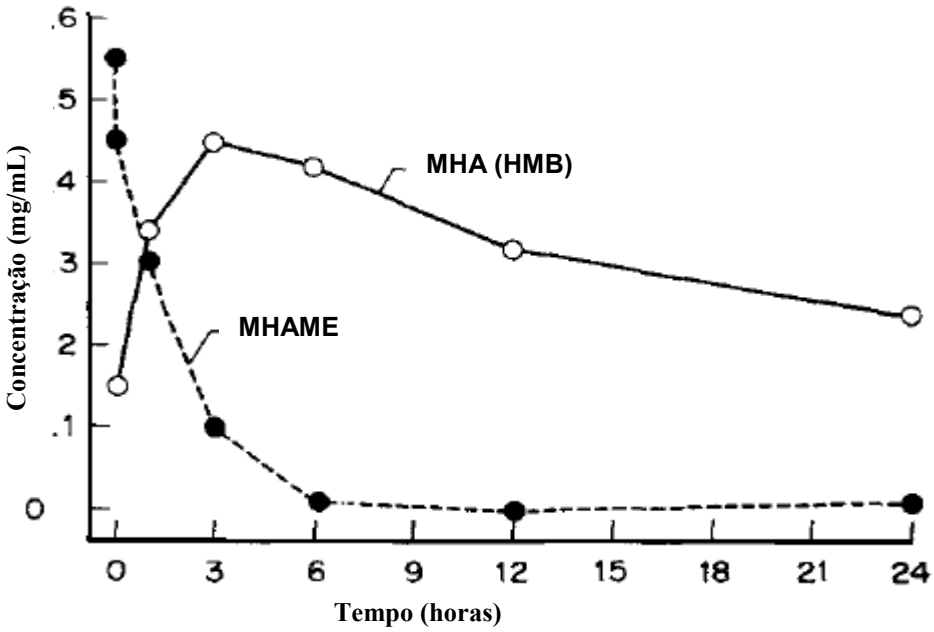

FIGURA 4. Conversão de hidroxi análogo de metionina éster (MHAME) para hidroxi análogo de metionina (MHA) pelos microorganismos do rúmen *in vitro.*

Fonte: PATTERSON & KUNG (1988)

Em estudos *in vitro* foi demonstrado que o HMBi, no rúmen, é hidrolisado a HMB e isopropanol (ROBERT et al., 2002a). Parte do HMB derivado do HMBi é absorvido através da parede do rúmen e o restante usado como substrato pelos microrganismos ruminais o que pode estimular a fermentação ruminal (ROBERT et al., 2002b). NOFTSGER et al. (2005) não encontraram HMBi no omaso de vacas em lactação que receberam 22 g/dia^{-1} de HMBi incorporado na ração total, encontraram apenas uma pequena quantidade de HMB, confirmando o uso pelos microrganismos.

ROBERT et al. (2002c) observaram que após 10 minutos do fornecimento do HMBi já foi possível detectar o HMB e Met na corrente sanguínea, com respectivos picos ocorrendo a 1:30h e a 4:00h. O HMBi não é absorvido nos intestinos e o local de absorção mais provável é a parede ruminal (GRAULET et al., 2005).

A absorção ruminal de HMBi foi confirmada usando-se cateter nas veias ruminal e jugular de duas vacas holandesas com rúmen funcional. Quando doses de HMBi foram colocadas no rúmen apenas traços do produto foram encontrados na veia ruminal e não foi detectado na jugular. Em contraste, grandes quantidades de HMB e metionina foram rapidamente encontrados em ambas as veias, após a suplementação ruminal. Maior concentração plasmática de HMB foi encontrada na veia ruminal (8.5 mg/100 g), comparada com a veia jugular (5.0 mg/100 g), confirmando a absorção ruminal de HMBi. A concomitante presença de HMB e isopropanol na veia ruminal sugere que o HMBi seja hidrolisado na parede ruminal (GRAULET et al., 2005). NOZIÉRE et al. (2004), trabalhando com ovinos também observaram absorção do HMBi através da parede ruminal e a hidrólise à HMB e isopropanol neste mesmo local. LOBLEY et al. (2006), utilizando cordeiros, verificaram que o HMB é convertido em metionina em diversos órgãos sendo os rins (24%) o fígado (22%) os principais.

A literatura relata que a enzima L-α-hidroxi ácido oxidase (L-HAOX) está envolvida na conversão de L-HMB para 2-ceto-4-metil ácido butânico (KMB), a forma “D” do HMB é oxidada a KMB pela ação da enzima desidrogenase do ácido D-2-hidróxi (D-HADH) mitocondrial e foi encontrada no epitélio ruminal, omasal, renal e em menor concentração no epitélio hepático em ovinos (McCOLLUM et al., 2000). A transaminação do KMB a L-Metionina não é um

passo limitante e não se restringe a um único doador amino. Em bezerros, o fígado e rim podem converter DL-HMB a L-Metionina através do KMB como um intermediário (BELASCO, 1972).

2.9. Degradação ruminal do HMB

A medida em que os microrganismos ruminais degradam a proteína da dieta, podem comprometer as exigências de proteína metabolizável de ruminantes. Portanto, a estratégia comumente empregada para atender a esses requisitos é primeiramente maximizar a síntese de proteína microbiana, e em seguida, suplementar todas as deficiências com fontes de aminoácidos específicos ou proteínas que resistam à degradação ruminal.

A suplementação de metionina em ruminantes tem sido um desafio, porque DL-metionina é rapidamente degradada no rúmen (NOFTSGER et al., 2005). No entanto, devido à sua estrutura química o HMB pode escapar da degradação ruminal (PATTERSON & KUNG, 1988; KOENIG et al., 1999;. KOENIG et al., 2002; VÁSQUEZ-AÑÓN et al., 2001; BATEMAN et al., 2004 ; NOFTSGER et al., 2005). A porção de HMB que é degradada no rúmen relatado em alguns estudo, tem sido inconsistente, o que provavelmente é resultado de muitos fatores, tais como dose e tipo de analógico.

A eficácia do HMB para fornecer uma fonte de metionina depende da sua resistência à degradação microbiana no rúmen, a sua passagem rápida do rúmen com a fase fluida da digesta, sua absorção e metabolismo de metionina nos tecidos (KOENIG et al. 2002). KOENIG et al. (1999) realizaram dois experimentos em um estudo para testar o escape ruminal, absorção gastrointestinal e a resposta da metionina no soro utilizando HMB líquido em vacas leiteiras. No primeiro experimento, os pesquisadores usaram quatro vacas canuladas em um quadrado latino 4 x 4, utilizando níveis de 0, 30, 60 ou 90 g de HMB no rúmen por dia durante 10 dias. As amostras duodenal foram coletadas em 16, 20 e 24 horas após a administração durante os últimos 5 dias e agrupados para análise e observaram que o HMB não foi detectado no conteúdo duodenal. O segundo experimento foi semelhante ao primeiro, no entanto, as amostras ruminal e duodenal foram coletadas em 0, 1, 3, 6, 8, 12 e 24 horas após a administração

do HMB rúmen. As concentrações de HMB no conteúdo ruminal e duodenal aumentou a valores de pico em 1 e 3 horas, respectivamente, e, em seguida, diminuiu para valores basais após 12 horas. Baseado nestes dados os pesquisador relataram que 50% (± 2,8%) do analógico escapou da degradação ruminal. Concentrações séricas de metionina atingiu o pico em 6 horas após a adiministrção de HMB e foram três vezes o nível pré-dose, em seguida retornou à concentrações pré-dose por volta de 12 horas.

Em um estudo similar, KOENIG et al. (2002) relataram uma passagem média de HMB ruminal de 39,5% com níveis crescentes de HMB. As vacas foram tratados em um quadrado látino 4 x 4 com 0, 25 ou 50 g de HMB líquido ou 51,2 g do HMB seco. A presença do HMB no duodeno não diferiu ($p>0,05$) entre as duas fontes do analógico, e não houve diferença ($p>0,05$) entre os níveis de 25, 50 e 51,2 g. Da mesma forma, PATTERSON & KUNG (1988) não relataram diferenças na degradação do analógico seco ou líquido, e relataram um escape ruminal de 55%. Estes resultados contrastam com os de WINDSCHITL & STERN (1988), que relatou degradação extensiva do sal de Cálcio de HMB em fermentações de cultura contínua (*in vitro*).

BATEMAN et al. (2004) adicionaram zinco e monensina sódica, conhecidos inibidores da degradação de proteínas, para aumentar ainda mais o fluxo de HMB para o duodeno, com pouco ou nenhum sucesso, no entanto, a fração sobrepassante de HMB foi significativa. A média de degradabilidade ruminal da HMB foi de 65,6% e não foi afetada pela adição de Zinco ou monensina.

Em estudo *in vivo* JONES et al. (1988) reportaram elevada degradação de HMB. Recuperarando menos de 1% na digesta duodenal, resultando em degradação ruminal de mais de 99% para todos os três suplementos (DL-metionina, sal de cálcio do HMB, e HMB na forma ácida). Os suplementos foram incluídos nas dietas em quantidades de 15 a 20 g/dia^{-1}.

2.10. Doadores de metil

Além de sua contribuição direta para a síntese de proteínas e precursor na sintese de cisteína, metionina desempenha um papel fundamental nas reações

transmetilação na biossíntese de colina, betaína, vitamina B12, fosfolipídios e carnitina, produtos que estão envolvidos no metabolismo de lipídios no fígado (LUNDIQUIST et al., 1985; FINKELSTEIN, 1990; LOEST et al., 2002a). A metionina pode ser convertida em S-adenosilmetionina (SAM), que é um mediador importante na síntese de poliaminas, fosfolipídios, proteínas, ácidos nucléicos, e mais de cem outras reações biológicas conhecidas (LOBELY, 1992).

A metionina é importante no fornecimento de grupos carbono-metil em reações SAM-dependente. Para a doação de um grupo metil, a SAM ativa é convertido para a homocisteína, composto tóxico e deve ser tanto transsulfurada em cisteína ou remetilada em metionina (LOBELY, 1992). Há duas enzimas que são responsáveis pela redução da homocisteína para produzir metionina. Betaina-homocisteina metiltransferase (BHMT) produz metionina por metilação de homocisteína usando betaína como doador de metila, enquanto o 5-metiltetrahidrofolato-homocisteína catalisa a formação de Met pela transferência de um grupo metil do 5-metiltetrahidrofolato à homocisteína (FINKELSTEIN, 1990).

Em ambos os casos, pora metionina ser remetilada, deve haver um número adequado de carbonos de substratos disponíveis na dieta, caso contrario, o intermediário de metionina permanece oxidada (LOBELY, 1992). A metionina é apenas um, de um grupo de compostos, incluindo betaína, inositol e colina, conhecida como lipotrópicos, que são conhecidos por sua atividade de transmetilação (CHAING et al., 1996). A disponibilidade de uma fonte de grupos metil, tais como betaína ou colina, pode ser importante para a preservação de metionina (LOEST et al., 2002a).

O ruminante tem uma baixa capacidade para doar compostos metil devido à dieta e à degradação ruminal (LOBELY, 1992). Assim, algumas tentativas por parte de pesquisadores tem sido propostas para fornecer um abastecimento alimentar de grupos metil para diminuir o catabolismo da metionina. Esta abordagem, em teoria, poderia fornecer um meio de conservação da metionina para o anabolismo protéico ou SAM-dependente de metilação de fosfolipídios e, assim, um possível aumento da massa magra ou deposição de gordura (LOBELY, 1992).

LOEST et al. (2002a) usaram novilhos Holandeses, em dois quadrados latino 5 x 5 projetado para testar poupadores de metionina por um conhecido grupo metil betaína doadores e colina. No primeiro experimento, bois canulados no rúmen, foram infundidos com dietas suplementadas com água, 2 g/dia^{-1} L-metionina, 1,7 g/dia^{-1} L-cisteína, 1,6 g/dia^{-1} de betaína, e 1,7g /dia^{-1} de L-cisteína + betaína. A retenção de nitrogênio foi maior ($p<0,05$) em resposta à dieta suplementada com L-metionina, indicando uma deficiência de aminoácidos sulfurados, que foi intencionalmente criado pelo modelo. A infusão de cisteína resultou apenas em uma tendencia de aumento ($p=0,16$) na retenção de nitrogênio. A falta de resposta à suplementação de cisteína demonstrou que os requisitos para a metionina não foram poupados por cisteína na dieta dos bois. Da mesma forma não observaram ($p>0,05$) respostas no saldo de nitrogênio em infusões abomasal de betaína ou betaína + cisteína. A betaína na dieta, quando desprotegida, é rapidamente degradado por microrganismos ruminais (MITCHELL et al., 1979).

Da mesma forma, em outro estudo utilizando betaína desprotegida para bovinos em crescimento (LOEST et al., 2001) e em terminação (GOODALL & BRETHOUR, 1999), as dietas resultaram em aumento pouco expressivos no desempenho dos animais.

LOEST et al. (2002a) não conseguiram demonstrar um efeito poupador de metionina com a adição de betaína no primeiro experimento. Entretanto, em um segundo experimento, uma maior quantidade de betaína foi utilizada. As dietas utilizadas no segundo experimento consistiram de infusão abomasal de água, 2 g/dia^{-1} de L-metionina, 8 g/dia^{-1} de betaína, 16 g/dia^{-1} de betaína, e 8 g/dia^{-1} de colina. Mais uma vez, a infusão abomasal de metionina levou a um aumento ($p<0,05$) na retenção de nitrogênio. A infusão abomasal de betaína em concentrações cinco e dez vezes maior que no primeiro estudo resultou apenas em uma tendencia de aumento em retenção de nitrogênio. Da mesma forma, a suplementação com 8 g/dia^{-1} de colina não aumentaram a retenção de nitrogênio.

Algumas pesquisas sugerem que a suplementação de betaína e colina podem afetar positivamente o desempenho e características de carcaça em bovinos de corte. DROUILLARD et al. (1998) utilizaram um total de 216 bois em terminação em dois experimentos para avaliar as interações entre os níveis de

gordura dietética, proteína e colina protegida. No primeiro experimeto os bois receberam 0 ou 5 g/dia^{-1} de colina em conjunto com níveis de proteína e lipídeos. A suplementação de colina tendeu a aumentar o ganho de peso médio diário (GPMD) ($p<0,13$), e a porcentagem de gordura na carcaças ($p<0,23$). No segundo ensaio, as dietas foram com níveis de colina protegida no rúmen (2 ou 9 g/dia^{-1}). A suplementação resultou em melhoras linear no GPMD ($p<0,01$), consumo de matéria seca (CMS) ($p<0,05$) e peso de carcaça. Além disso, todas as medidas de gordura da carcaça aumentou numericamente com o nível crescente de colina.

BRYANT et al. (1999) relataram uma resposta cúbica ($p<0,10$) para GPMD e conversão alimentar (CA) em resposta aos níveis de colina protegida no rúmen, mas as características da carcaça não foram significativamente afetados pela colina suplementar. Em um segundo experimento, os mesmos pesquisadores relataram pouca ou nenhuma melhora no desempenho de cordeiros em crescimento suplementados com níveis de colina protegida no rúmen. BINDEL et al. (2000) também reportaram efeitos positivos em GPMD, ($p<0,10$) e eficiência alimentar (EA) ($p<0,10$), mas não relataram resultados positivos para as características de carcaça à suplementação de colina protegida.

LOEST et al. (2002b) estudaram o efeito da suplementação de betaína no acabamento de bovinos confinados e relataram aumento (resposta cúbica, $P<0,05$) no marmoreio para dietas de novilhas alimentadas com 4 ou 12 g/dia^{-1}.

Geralmente, os resultados da suplementação de compostos doador de metil para ruminantes são inconsistentes. Sob certas condições, estes compostos podem alterar o desempenho e características de carcaça, mas a falta de consisténcia dos resultados de pesquisa, sugere que ainda há muito por ser esclarecido sobre os efeitos potenciais dos doadores de grupo metil.

2.11. HMB e o metabolismo de lipídios

Como explicado anteriormente, a metionina é essencial nas reações SAM-dependente e uma das importantes reações biológicas SAM-dependente envolve a síntese de fosfolipídios. A metionina está, portanto, diretamente relacionada com a síntese de fosfolipídios, bem como é precursora da síntese hepática de apolipoproteínas, que são constituintes estruturais da lipoproteína de

muito baixa densidade (VLDL) (BERTICS & GRUMMER, 1999). Em estudos iniciais com suplementação de HMB para ruminantes, foi demonstrado aumento de lipídios no sangue (POLAN et al., 1970) e alterações nas frações de lipoproteínas sanguineas (MCCARTHY et al., 1968).

O mecanismo pelo qual lipídios aumentam na corretente sanguinea, quando os ruminantes são suplementados com HMB tem sido debatida por pesquisadores. PATTON et al. (1970) relataram um aumento no número de protozoários no rúmen quando o HMB foi adicionado em uma dieta de alto grão para ovelhas. Protozoarios são importantes fornecedores de fosfatidilcolina, componente das lipoproteínas, que tem se mostrado uma importante molécula envolvida na exportação de gordura do fígado pelo VLDL e quilomícrons em ratos (YAO & VANCE, 1988).

Neste sentido, FERNANDES et al. (2008) avaliaram o efeito de suplementos orgânicos sobre o desempenho de bovinos em pastagens, onde os tratamentos foram: suplemento controle (compreendendo o produdo comercial, Premiphós Campo Extra); AGE (suplemento controle adicionado de mistura orgânica comercial de ácidos graxos essenciais); AGEF (Suplemento AGE enriquecido com fosfatidilcolina) e constataram que o uso do aditivo orgânico contendo ácidos graxos essenciais e sua associação à fosfatidilcolina promoveu aumento no ganho de peso médio diário de 13 e 18%, respectivamente.

No entanto, LUNDQUIST et al. (1985) estudaram os efeitos de sulfato de sódio, HMB, e DL-metionina sobre suplementação ruminal de protozoários em um quadrado latino 3 x 3 e constataram que o número de protozoários ciliados total foram maiores ($p<0,05$) para o tratamento DL-metionina não havendo diferença ($p>0,05$) entre os tratamentos, sulfato de sódio e HMB. Contudo, NOFTSGER et al. (2003), não relataram aumentos significativos na contagem de protozoários no rúmen e omaso de vacas alimentadas com HMB, HMBi, ou DL-metionina em comparação com uma dieta controle.

Alguns pesquisadores acreditam que a melhora no metabolismo lipídico em resposta a suplementação de HMB, poderia ser devido a mudanças nos padrões de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen. Aumento de acetato ruminal em relação ao proprionato foram observados com a suplementação de HMB (ROSSER et al, 1971). LUNDQUIST et al. (1985)

reportou que mudanças nas consentreações de AGCC no rúmen poderia influenciar o conteúdo de gordura do leite em vacas leiteiras,ou seja, diminuindo o propionato e aumento de acetato poderia aumentar a deposição de gordura corporal e a gordura do leite. Embora esta teoria possa ser verdadeira, nenhuma tendência consistente na produção de AGCC foram observados a partir de adição de HMB. Alguns pesquisadores relataram nenhuma mudança para o acetato, propionato e butirato (WINDSCHITL & STERN, 1988;. VÁSQUEZ-AÑÓN et al, 2001), enquanto outros têm relatado diminuição (GIL et al., 1973.) e aumento (LUNDQUIST et al., 1983) na produção de acetato. A concentração de butirato também mostrou-se diminuir (Gil et al., 1973) ou permanecer inalterado (LUNDQUIST et al., 1983). Em alguns estudos, valerato (WINDSCHITDL & STERN, 1988), isobutirato e isovalerato (LUNDQUIST et al., 1983) mostraram nenhuma mudança, entretanto, NOFTSGER et al. (2003) relataram resposta quadrática ($p<0,05$) em valerato com o aumento do nível de HMB.

O pH em sistemas de cultura contínua (*in vitro*) é muitas vezes mais estável do que no rúmen, e pode, assim, ter afetado a produção de AGCC em alguns dos estudos citados (NOFTSGER et al., 2003).

RAY et al. (1983) sugerem que os efeitos sobre o metabolismo lipídico pode ser um resultado do aumento das concentrações séricas de metionina. Aumento da concentração de metionina no sangue têm sido relatados com a suplementação de HMB (BELASCO, 1980;. KOENIG et al., 2002). Como afirmado anteriormente, a metionina é essencial na síntese de metabólitos lipídicos e de lipídios (BERTICS & GRUMMER, 1999). É razoavel que, sob certas condições, os aumentos nas concentrações séricas de metionina poderia proporcionar aumento da quantidade de precursor para a síntese de lipídios (RAY et al., 1983.).

Aumento de lipídios no sangue de vacas alimentadas com HMB apoiam esta teoria. BERTICS & GRUMMER (1999) relataram aumento de ácidos graxos não esterificados no plasma de vacas suplementadas com HMB. Da mesma forma, LOOR et al. (2002) relataram que 30 g/animal.dia^{-1} de suplementação de HMB aumentou a concentrações plasmáticas de ácidos graxos em vacas.

2.12. Desempenho e características da carcaça de bovinos suplementados com análogos de metionina

A metionina tem sido apontada como o primeiro AA limitante para bovinos em crescimento (RICHARDSON & HATFIELD, 1978; WILKERSON et al, 1993), e diferentes fontes de metionina tem sido estudadas com o objetivo de investigar a melhora do desempenho de bovinos de corte. Efeitos positivos na degradabilidade ruminal da matéria seca (MS) e da fibra em detergente neutro (FDN) de rações suplementadas com DL- Metionina foram observados por HUISMAN et al. (1988) e NOFTSGER et al. (2005). VÁZQUEZ-AÑÓN, et al. (2001) relataram melhora na eficiência de síntese microbiana com a inclusão de HMB na dieta. Alterações no metabolismo lipídico, na digestão da fibra, na síntese de proteína bacteriana, no número de protozoários e nos padrões dos AGCC são esperadas (LUNDQUIST et al., 1985; ARAMBEL et al., 1987; WILSON et al., 2008).

É razoavelmente e bem estabelecido que a adição de HMB à dieta de bovinos de leite aumenta a síntese de gordura, refletindo em aumentos em percentagem de gordura do leite (LUNDQUIST et al., 1983; ST-PIERRE & SYLVESTER, 2005). Neste sentido, especula-se que o efeito da metionina como doador de grupo metil é um mecanismo que poderia melhorar a síntese de gordura intramuscular e no acabamento de bovinos. No entanto, resultados de pesquisas com suplementação de análogos de metionina para bovinos de corte são controversos, existe uma falta de consistência nas respostas dos dados de desempenho e os resultados de características de carcaça são geralmente decepcionantes.

Na Tabela 3 está apresentada uma compilação de resultados de 10 experimentos de crescimento e/ou terminação de bovinos confinados. Respostas positivas, em pelo menos uma variável de desempenho, foram observadas em cinco experimentos, respostas negativas em dois e ausência de resposta à suplementação de metionina, foram constatadas em quatro experimentos. Para os resultados de características de carcaça, dos seis experimentos revisados, apenas em um observou-se resultado positivo (peso de carcaça quente), entretanto, a resposta parece estar mais relacionada com o maior peso final dos

animais abatidos aos 105 dias no trabalho de VAN KOEVERING et al. (1994), que propriamente por algum efeito do HMB sobre o metabolismo lipídico dos animais.

TABELA 3. Resumo dos dados de desempenho e caracteísticas da carcaça de bovinos em crescimento e/ou terminação suplementados com metionina

PF	GPMD	CMS	EA	CA	CC	Referência
+	+	+	NI	+	+	VAN KOEVERING et al. (1994)
-	-	-	NI	-	-	VAN KOEVERING et al. (1994)
NS	NS	NS	+	NI	NS	HUSSEIN & BERGER (1995)
NS	NS	NS	NS	NI	NS	CAMPBELL et al. (1997)
NS	+	NS	NS	NI	NS	KLEMESRUD et al. (2000)
NS	NS	NS	NS	NI	NI	LOEST et al. (2001)
NS	NS	-	NS	NI	NS	WILSON et al. (2008)
NS	NS	NS	NS	NI	NS	WILSON et al. (2008)
NS	+	+	NS	NI	NI	HERSOM et al. (2009)
NS	NS	NS	NS	NI	NI	HERSOM et al. (2009)
NI	+	NI	NI	NI	NI	OLIVEIRA et al. (2010)

NS = não significativo; NI = não informado pelo autor; + = efeito positivo; - = efeito negativo.
PF = Peso final (kg); GPMD = Ganho em peso médio diário (kg/dia); CMS = Consumo de matéria seca (kg/dia); EA = Eficiência alimentar (GPMD/kg MS consumida); CA= conversão alimentar kg MS consumida/GPMD); CC = características da carcaça

Não está claro por que existem diferenças na resposta à suplementação de metionina em bovinos em crescimento e por que existem diferenças nas respostas entre as fontes de metionina. Apesar da conclusão de que a metionina é o aminoácido mais limitante em bovinos em crescimento, muitas vezes, respostas em GPMD não são reportadas com a adição de metionina. É provável que a resposta à suplementação com metionina pode ser menos evidente quando bovinos em crescimento são alimentados com dietas onde haja uma combinação de fontes de proteína ou em dietas de baixa proteína basal (MERCHEN & TITGEMEYER, 1992). Respostas significativas à suplementação de metionina para bovinos em crescimento ocorrem mais frequentemente quando a metionina foi adicionado em dietas baseadas em forragens, naturalmente deficientes em determinados aminoácidos (VEIRA et al., 1991; ARCHIBEQUE et al., 2002; HERSOM et al.; 2009).

Embora muitas pesquisas tenham sido realizadas com a suplementação de metionina para bovinos em crescimento, há muito pouca pesquisa publicada pra bovinos em terminação. Evidenciando a necessidade de mais pesquisas para uma melhor compreensão dos efeitos da suplementação de HMB em dietas de terminação, e determinar com maior precisão se tais efeitos podem ser benéficos para o produtor de carne bovina.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a inclusão de níveis do análogo de metionina HMB (DL, 2-hidróxi-4-(metil) ácido botânico) em dietas de bovinos da raça Nelore terminados em confinamento.

3.2. Objetivos específicos

- Avaliar o consumo de matéria seca em g/dia^{-1} e % do peso vivo;
- Determinar a degradabilidade "*in vitro*" da matéria seca das dietas experimentais;
- Avaliar o desempenho animal (peso final, ganho de peso total, ganho de peso médio diário, conversão e eficiência alimentar);
- Determinar as características quantitativas das carcaças;

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local e animais

4.1.1. Experimento 1

O experimento 1 foi conduzido nas instalações do confinamento experimental de bovinos de corte da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG (CEBC-UFG) localizada no município de Goiânia, com altitude de 771 m, latitude 16º36' sul e longitude 49º15' oeste e foi executado entre os meses de agosto e novembro de 2009. Foram alojados por 111 dias, 128 animais da raça Nelore, machos, não castrados, com peso inicial 290 kg (± 20,50) em 16 baias de 77 m^2, sendo 8 animais/baia, com uma área de 9,63 m^2/animal

Os dados de características das carcaças foram coletados em frigorífico sob inspeção federal, localizado no município de Palmeiras-GO, à 93 km do local do experimento.

4.1.2. Experimento 2

O experimento 2 (degradabilidade *in vitro* da matéria seca das dietas experimentais) foi realizado no Laboratório do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da UFG, após o termino do experimento 1. Para coleta de líquido ruminal foi utilizado um animal da raça Holandês, macho, não castrado, com peso aproximando de 200 kg, munido de cânula ruminal.

4.2. Tratamentos

Para ambos os experimentos (1 e 2), as dietas foram isoprotéicas e isoenergéticas, com 16% de PB e 70 % de NDT, apresentando quatro níveis de inclusão de HMB (DL, 2-hidróxi-4-(metil) ácido botânico). As rações foram balanceadas utilizando o NRC (1996) Nível-1. No experimento 1, o HMB foi pré-misturado junto à mistura mineral e ao farelo de soja em misturador em “Y” diariamente e incluído nas rações em seus devidos níveis, multiplicando-se o

nível de inclusão pré-determinado, pelo número de animais da baia. Os tratamentos foram: T0 = dieta controle (sem HMB); T5 = dieta com 5 g HMB/animal.dia^{-1}; T10 = dieta com 10 g HMB/animal.dia^{-1}; T15 = dieta com 15 g HMB/animal.dia^{-1}. A composição das dietas estão demonstradas na Tabela 4.

TABELA 4 - Proporções dos ingredientes, expressas na base da matéria seca e percentual de FDN (fibra em detergente neutro), PB (proteína bruta) e NDT (nutrientes digestíveis totais) das rações experimentais

Ingredientes	**Tratamentos**			
	T0	**T5**	**T10**	**T15**
Bagaço de cana *in natura* (%)	13,44	13,44	13,44	13,44
Casca de soja (%)	41,67	41,67	41,67	41,67
Milho (%)	18,15	18,15	18,15	18,15
Caroço de algodão (%)	17,47	17,47	17,47	17,47
Farelo de soja (%)	5,38	5,38	5,38	5,38
Melaço (%)	1,34	1,34	1,34	1,34
Uréia (%)	0,67	0,67	0,67	0,67
Mistura Mineral (%)*	1,88	1,88	1,88	1,88
Composição				
FDN	52	52	52	52
PB	16	16	16	16
NDT	70	70	70	70

* Níveis de garantia por kg do produto na mistura mineral (Cálcio = 103,00 g/kg; Fósforo = 45,0 g/kg; Enxofre = 40,00 g/kg; Magnésio = 44,00 g/kg; Potássio = 61,50 g/kg; Sódio = 114,50 g/kg; Cobalto = 48,50 mg/kg; Cobre = 516,00 mg/kg; Iodo = 30,00 mg/kg; Manganês = 760,00 mg/kg; Selênio = 9,00 mg/kg; Zinco = 2.516,50 mg/kg; Flúor = 450,00 mg/kg; Monensina Sódica = 2.000,00 mg/kg).

4.3. Período experimental e coleta de dados

4.3.1. Experimento 1

Antecedendo o período experimental, os animais foram submetidos a um período de adaptação de 21 dias às instalações e à dieta experimental. As rações de adaptação continham os mesmos ingredientes das rações experimentais, sendo inicialmente utilizados níveis de 60% de concentrado. O teor

de forragem foi reduzido em 10 unidades percentuais a cada 7 dias. Após os 21 dias de adaptação os animais passaram a receber as rações definitivas e permanecerão mais 90 dias confinados. Todos os animais foram vacinados contra clostridioses e receberão dose de vermífugo e de complexo vitamínico ADE no dia 0 do experimento.

Durante o confinamento, os animais foram alimentados à vontade, uma vez ao dia, às 8 horas da manhã, utilizando um vagão de mistura total, marca Siltomac modelo 203, equipado com balança eletrônica e esteira. O consumo voluntário da dieta foi registrado diariamente, através da pesagem da quantidade de alimento oferecido e das sobras de alimento que eram pesadas e retiradas uma vez por semana. A oferta de alimento estipulada foi 10% acima do consumo voluntário, sendo regulada de acordo com o consumo do dia anterior.

Os animais foram pesados após jejum alimentar de 12 horas no início do período de adaptação, após 21 dias (término da adaptação) e em intervalos de 30 dias, totalizando 90 dias de experimento.

Foram coletadas amostras representativas dos componentes da dieta alimentar (concentrado e volumoso) no início da adaptação e semanalmente durante o período experimental. Estas amostras foram compostas (a cada 4 semanas) e congeladas para posteriores análises laboratoriais.

Os dados de desempenho coletados e calculados foram: peso inicial (PI) e peso final (PF), consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em % peso vivo (CMS%PV), ganho de peso diário (GPD), Ganho de peso total (GPT), conversão alimentar (CA) e eficiência alimentar (EA).

Ao final do experimento os animais foram abatidos e realizados as avaliações de carcaça. O peso da carcaça quente foi obtido no final da linha de abate, antes da entrada para a câmara de resfriamento, onde estas foram identificadas e pesadas. O peso da carcaça fria foi obtido após resfriamento da carcaça por 24 horas em câmara de resfriamento à 0 ± 1ºC. Os rendimentos percentuais de carcaça quente foram obtidos segundo formula proposta por REZENDE (2010):

$$RCQ\ (\%) = \frac{PCQ}{PVA} \times 100$$

Onde:

RCQ = rendimento de carcaça quente;

PCQ = peso da caraça quente;
PVA = peso vivo de abate.

O peso dos cortes primários, dianteiro e traseiro, foram obtidos na meia carcaça direita, sendo o seu percentual expresso em relação ao peso de carcaça fria conforme descrito por REZENDE (2010).

Na meia carcaça esquerda foi realizado um corte entre a 12ª e 13ª costelas para exposição do músculo *Longissimus dorsi* (MLD). A espessura de gordura recobrindo o MLD foi medida em três pontos com auxílio de paquímetro, cuja média forneceu a espessura de gordura subcutânea (REZENDE, 2010).

4.3.2. Experimento 2

Os procedimentos descritos nos itens 4.3.2.1; 4.3.2.2; 4.3.2.3 foram adotados em conformidade com a técnica proposta por CAMPOS et al. (2004)

4.3.2.1. Preparação dos sacos de TNT e das amostras

Foram confeccionados sacos de TNT (tecido não tecido) com dimensões 5,0 cm x 5,0 cm (LINO et al., 2011), foram lavados com acetona por três a cinco minutos. Após o escoamento do produto, foram colocados em estufa com circulação forçada de ar a 55ºC por duas horas e posteriormente em estufa a 105ºC, por 12 horas.

Após serem colocados em dessecador por 40 minutos e marcados com lápis permanente, os sacos tiveram seu peso registrado. Em cada saco, foram adicionados 0,5 g de amostra da ração experimental, moída em peneira com crivo de 1 mm e HMB nos níveis de 0; 0,057%; 0,114% ou 0,171% da MS da dieta total (projetadas para fornecer 0, 5, 10 e 15 g/animal.dia^{-1} de HMB) conforme tratamentos. Posteriormente, 34 sacos (32 amostras, um branco e uma testemunha) de um tratamento foram selados e acondicionados nos jarros de vidro da incubadora TE-150 (TECNAL). O branco (saco lacrado vazio) consistiu no fator de correção. As amostras foram incubadas em duplicata (que posteriormente formaram uma única amostra de cada tempo).

4.3.2.2. Preparação da solução tampão

Inicialmente, a (ST) solução tampão (4,08 g de KH_2PO_4; 1,5 g de $MgSO_4.7H_2O$; 8,72 g de Na_2HPO_4; 0,50 g de KCL em 1L de água destilada) foi completada com as seguintes soluções para cada litro da ST: 20 mL da solução carbonato de sódio anidro (15,73 g de Na_2CO_3/100 mL); 10 mL da solução de uréia (8,0 g da uréia/100 mL); 0,10 g de $CaCl_2$; e 0,025 g de $Na_2S.9H_2O$, e ajustada para obter pH final de 6,8 e pré-aquecidas a 39ºC. Aproximadamente 1600 mL da solução resultante (tampão Kansas) foram adicionados a cada jarro, contendo os sacos (substrato, branco e testemunha).

Os jarros de digestão foram colocados na incubadora, que foi aquecida a temperatura de 39ºC, 20 a 30 minutos antes da incubação do líquido ruminal e infusão de CO_2.

4.3.2.3. Coleta, preparação do líquido ruminal e incubação

Foram realizadas duas coletas de líquido ruminal, com intervalo de uma semana. Antes da coleta do líquido ruminal, garrafa térmica, funil, provetas, recipientes de coletas e liquidificador foram aquecidos com água a 39ºC.

O líquido ruminal foi coletado às 8 horas da manhã, após adaptação do animal à dieta experimental por dez dias.

Cerca de 2000 mL de líquido foram coletados manualmente, com retirada de diferentes locais, o líquido ruminal foi misturado em liquidificador aquecido à velocidade alta durante 30 segundos, após a mistura, o líquido foi filtrado em tecido de algodão e colocado em garrafa térmica aquecida. O material foi enviado logo em seguida ao laboratório e 400 mL foram adicionados nos jarros, contendo os sacos de incubação e solução tampão de Kansas e acondicionados na incubadora TE-150 (TECNAL). Todo procedimento ocorreu com infusão constante de CO_2.

As amostras foram incubadas por 0, 2, 4, 8, 12, 24, 48h a 39ºC, em meio anaeróbio. Após a retirada dos sacos de TNT, estes foram colocados em água fria para paralisar a atividade microbiológica e posteriormente lavados em água corrente com balde, até que a água se apresentasse clara. Depois de

retirado o excesso de água, os sacos foram colocados em Becker de 250 mL com acetona, por 5 minutos, e levados a estufa com circulação forçada de ar 55°C e secados completamente a 105°C, por 12 horas. Os sacos foram colocados em dessecador durante 40 minutos e tiveram seu peso registrado.

Para calcular a degradabilidade da MS foi utilizada a fórmula descrita por CAMPOS et al. (2004):

$$DgMS\ (\%) = \frac{A - (B - Br) \times 100}{A}$$

Onde:

DgMS (%) = degradabilidade da MS em porcentagem;

A = matéria seca inicial = peso da amostra x 2ª MS/100;

B = matéria seca residual = peso do saco com resíduo seco – peso do cadinho;

Br = peso do resíduo do branco (g).

Os dados de degradabilidade obtidos foram ajustados pelo modelo de ØRSKOV & MCDONALD (1979), segundo a equação:

$p = a + b\ (1\text{-}e^{-ct})$

Em que:

p = taxa de degradação no tempo t;

a = fração de rápida degradação (representado pelo intercepto da curva de degradação no tempo zero);

b = fração potencialmente degradável;

c = taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável;

e = log natural de “-ct”.

t = tempo de incubação;

$a + b \leq 100$

As constantes a, b e c foram utilizadas para cálculos da degradabilidade potencial (a+b), que representa o alimento solubilizado ou degradado no rúmen quando o tempo não é fator limitante e a degradabilidade efetiva conforme equação de ØRSKOV et al. (1980).

$p = a + (bc)/(c+Kp)$

Onde:

p = representa a taxa de degradabilidade efetiva;

a = é a interseção da curva no tempo zero, a fração rapidamente solúvel;

b = é a fração potencialmente degradável, a fração degradada no tempo;

c = é a taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável;
Kp = taxa estimada de passagem das partículas no rúmen por hora.

ORSKOV et al. (1980) relatam que Kp pode variar de 0,01 a 0,1. A.F.R.C. (1992) recomenda taxa de 0,05/h para gado de corte recebendo alto nível de dietas mistas.

4.4. Delineamento experimental e análise estatística

4.4.1. Experimentos 1 e 2

Para o experimento 1 foi adotado o delineamento em blocos completos casualizados, composto por quatro tratamentos e quatro repetições. Os animais foram distribuídos nos blocos de acordo com o peso vivo. Para todos os parâmetros analisados, a baia foi utilizada como unidade experimental.

Para o experimento 2 foi adotado delineamento inteiramente casualizado, composto de quatro tratamentos e quatro repetições.

Os dados de desempenho, características de carcaça e degradabilidade *in vitro* da MS foram analisados estatisticamente com auxílio do software R (R Development Core Team, 2011).

Todos os dados foram testados para se verificar a distribuição normal dos erros e a homogeneidade das variâncias, utilizando-se o auxílio do software R (R Development Core Team, 2011).

O quadro resumido do esquema de análise de variância dos experimentos 1 e 2 estão apresentados nas Tabelas 5 e 6 respectivamente.

Tabela 5. Resumo esquemático da análise de variância para os parâmetros avaliados no experimento 1

Fatores de Variação	Graus de Liberdade*
Bloco	3
Tratamento	3
Resíduo	9
Total	15

*Graus de liberdade associados à análise das seguintes variáveis resposta: peso inicial, peso final, ganho de peso total, ganho de peso médio diário, consumo de matéria seca, consumo de matéria seca em % do peso vivo, conversão alimentar, eficiência alimentar e características de carcaça.

Tabela 6. Resumo esquemático da análise de variância para os parâmetros avaliados no experimento 2

Fatores de Variação	**Graus de Liberdade***
Tratamento	3
Resíduo	12
Total	15

*Graus de liberdade associados à análise da, degradabilidade *in vitro* da ração experimental.

4.5. Análises laboratoriais

As amostras dos ingredientes foram secas em estufas de ventilação forçada (55°C) até atingirem peso constante, moídas em moinho tipo “Willey” provido de peneira de 1 mm e analisadas para determinação de matéria seca (MS), matéria orgânica (MO), proteína bruta (PB) e extrato estéreo (EE) de acordo com o AOAC (1990), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) de acordo com os métodos propostos por VAN SOEST et al. (1991) e adaptado para o aparelho determinador de fibra TE-149 (TECNAL).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Experimento 1

5.1.1. Análises bromatológicas

Os dados das análises bromatológicas dos ingredientes da ração são apresentados na Tabela 7.

TABELA 7 – Composição bromatotólgica dos ingredientes da ração experimental

		% da MS				
Ingredientes	**MS (%)**	**PB**	**FDN**	**FDA**	**EE**	**MM**
Bagaço de cana *in natura*	60,76	3,08	85,16	56,34	0,70	1,92
Casca de soja	95,78	14,58	69,47	51,39	1,95	4,01
Milho	94,92	9,49	12,81	6,74	3,74	1,16
Caroço de algodão	92,62	22,15	48,83	38,63	17,37	3,44
Farelo de soja	96,05	49,78	15,73	10,38	1,34	7,48
Melaço	92,62	3,77	1,40	0,76	0,01	15,29

MS = Matéria seca; PB = Proteína bruta; FDN = Fibra em detergente neutro; FDA = Fibra em detergente ácido; EE = Extrato etéreo; MM = Matéria mineral

Os teores de MS do bagaço de cana *in natura*, casca de soja, milho e farelo de soja estiveram um pouco acima daqueles compilados por VALADARES FILHO et al. (2006), já os demais ingredientes, estiveram dentro dos padrões normais. Os teores de PB, FDN, FDA, EE e MM dos ingredientes se encontraram dentro de um intervalo normal (VALADARES FILHO et al., 2006).

5.1.2. Consumo e desempenho

Os dados de peso inicial (PI), peso final (PF), ganho de peso total (GPT), ganho de peso médio diário (GPMD), consumo de matéria seca (CMS), consumo de matéria seca em % do peso vivo (CMS%PV), conversão alimentar (CA) e eficiência alimentar (EA) obtidos neste estudo são apresentados na Tabela 8.

TABELA 8. Valores médios de consumo e desempenho de bovinos Nelore terminados em confinamento submetidos a níveis crescentes (0, 5, 10, 15g/animal.dia^{-1}) de HMB (DL, 2-hidroxi-4-(metil) ácido butânico) na dieta

	Tratamentos					
Variáveis	**T0**	**T5**	**T10**	**T15**	**CV (%)**	**p valor**
PI	290,44	290,16	290,16	290,34	0,15	NS
PF	426,25	427,58	432,56	425,50	2,52	NS
GPT	135,81	137,25	142,41	135,16	7,72	NS
GPMD	1,51	1,55	1,58	1,50	7,72	NS
CMS	9,11	8,61	8,79	8,43	5,55	NS
CMS%PV	2,54	2,45	2,42	2,36	5,02	NS
CA	6,057^{a}	5,543^{b}	5,552^{b}	5,633^{ab}	5,50	<0,05
EA	0,166^{b}	0,178^{ab}	0,182^{a}	0,179^{ab}	5,37	<0,06

PI = Peso inicial (kg); PF = Peso final (kg); GPT = Ganho de peso total (kg); GPMD = Ganho em peso médio diário (kg/dia); CMS = Consumo de matéria seca (kg/dia); CMS%PV = Consumo de matéria seca em % do peso vivo (kg MS consumida/kg Peso médio da unidade experimental * 100); CA = Conversão alimentar (kg MS consumida/GMD); EA = Eficiência alimentar (GMD/ kg MS consumida); CV = Coeficiente de variação (%); NS = Não significativo.
O valor de p foi obtido do teste de Duncan. Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste *Duncan* a 5% ou 6% de probabilidade.

Não foi observado influência dos tratamentos (p>0,05) sobre o PF, GPT, GPMD, CMS e o CMS%PV. No entanto, a CA (p<0,05) e a EA (p<0,06) foram alteradas pela inclusão de HMB na ração. A CA foi melhorada nos níveis de 5 e 10 g/animal.dia^{-1} de HMB, contudo, a EA para o nível de 10g/animal.dia^{-1} foi superior ao tratamento controle em 8,8%, sendo o único superior ao tratamento controle. Comparações múltiplas com dados da literatura não são possíveis por causa da falta de estudos em que HMB foi adicionado a dieta de bovinos Nelore na terminação em condições semelhantes a este experimento.

Contudo, VAN KOEVERING et al. (1994) estudaram os efeitos do HMB (0 ou 0,03% da MS da dieta) sobre o desempenho de 256 novilhos (329 kg de peso vivo médio inicial) mestiços, separados em 8 grupos de 32 animais que foram abatidos depois de 105, 119 , 133 e 147 dias de alimentação. O HMB foi oferecido a cada grupo apenas durante os 82 dias finais de alimentação e observaram efeito positivo do HMB no PF (p<0,01), GPMD (p<0,01), CMS (p<0,10) e CA (p<0,10) para os animais abatidos depois de 105 dias de

alimentação, entretanto, para os animais abatidos depois de 147 dias de alimentação houve diminuição no PF, GPMD ($p<0,01$) e no CMS ($p<0,10$) e piora na CA ($p<0,01$).

Por outro lado, CAMPBELL et al. (1997) estudando o desempenho de 100 novilhos (287 kg de Peso médio inicial) alimentados com dietas contendo 1% de uma fonte de N não protéico, uréia e farelo de soja, uréia mais 2 g/dia^{-1} de DL-Metionina, 8 g/dia^{-1} de L-Lisina, 2 g/dia^{-1} de L-Treonina e 1 g/dia^{-1} L-Triptofano ou uréia e 4 g/dia^{-1} de DL-Metionina, 16 g/dia^{-1} de L-Lisina, 4 g/dia^{-1} de L-Treonina e 2 g/dia^{-1} de L-Triptofano, constataram que a suplementação de aminoácidos não afetou desempenho de novilhos alimentados com dieta à base de milho.

Da mesma forma, LOEST et al. (2001), também não encontraram respostas positivas para CMS, GPMD, EA e PF quando comparou o desempenho de crescimento de 300 novilhas (260 kg de PV médio inicial) alimentadas com uma dieta baseada em casca de soja peletizada (91,6% da MS total) suplementadas com HMB (10 g/animal.dia^{-1}), betaína lipídico-revestido ou separador concentrada subproduto (CSB; uma fonte de betaína) por 71 dias em confinamento.

Em contrapartida, KLEMESRUD et al. (2000) avaliaram os efeitos dos níveis de lisina e metionina protegida sobre desempenho de bezerros (237 kg de peso médio inicial), não encontrando resposta a suplementação de metionina sozinha, contudo, o tratamento com 4 g de lisina e 1,2 g de metionina protegidas, aumentou o GPMD, especialmente no início do período de alimentação (1 a 56 dias). No entanto, não houve resposta positiva para lisina ou metionina durante qualquer período após 56 dias para nenhuma variavel de desempenho.

Também estudando os efeitos da suplementação de lisina e metionina protegidas no rúmen (LMPR) (0, 5, 10 ou 15g/animal.dia^{-1}) sobre o desempenho em confinamento de 168 novilhos da raça Holandês (182,7 kg de peso médio inicial) em um experimento de crescimento e terminação (dois períodos de 84 dias e um de 98, totalizando 266 dias), utilizando dieta de alto concentrado contendo 71% de milho e 10 % de silagem de milho com 13% PB na MS da dieta total, HUSSEIN & BERGER (1995) reportaram que a suplementação com níveis crescentes de LMPR não afetou ($P>0,10$) o GPMD durante os três períodos de crescimento. No entanto, CMS e a EA apresentou efeito cúbico ($P<0,10$) em

resposta ao aumento da concentração dietética de LMPR. A suplementação de LMPR a 10 g/animal.dia^{-1} melhorou a EA durante os últimos 98 dias e nos 266 dias de confinamento, contudo, o PF não diferiu entre os tratamentos.

Respostas positivas para GPMD e CMS foram apontadas por HERSOM et al. (2009) ao avaliarem os efeitos do nível e fonte de suplementação de enxofre contendo HMB sobre o desempenho de bezerros de corte em crescimento recebendo uma dieta a base de forragem, para tanto foram utilizados 128 bezerros (277 kg de peso inicial). O GPMD foi maior (P<0,05) para animais suplementados com 2 ou 6 g/dia^{-1} de HMB, comparado com o tratamento controle, já o consumo de MS total foram maiores (P<0,05) para todos tratamentos contendo HMB (2, 4, 6, 8 g/dia^{-1} de HMB). No entanto, em um segundo experimento conduzido por estes mesmos autores, utilizando 72 novilhas Angus x Simental (371 kg de peso inicial) suplementadas com 0; 7,5 ou 15 g de HMB diariamente por 85 dias, observaram que a adição de HMB não resultou em diferença em nenhuma variável de desempenho ao final dos 85 dias de confinamento.

Analisando o benefício de HMB e HMBi, para bovinos Nelore de 24 meses terminados em confinamento recebendo uma dieta à base de silagem de sorgo (51,2%), gérmen de milho (41,8%), farelo de algodão (5,0%) contendo 13% de PB na base da MS, OLIVEIRA et al. (2010), observaram que o GPMD foi maior (P<0,05) nos tratamentos com HMBi (1,286 kg/dia^{-1}) e HMB (1,274 kg/dia^{-1}) em relação ao tratamento controle (0,862 kg/dia^{-1}), contrariando os resultados observados no atual estudo.

Respostas negativas da suplementação com HMB também foram relatadas por WILSON et al. (2008), quando estudaram os efeitos da suplementação de HMB sobre o desempenho de bovinos terminados em confinamento recebendo uma dieta a base de milho floculado (74,7%), utilizando-se de 160 novilhos (385 kg de peso médio inicial) que foram distribuídos em quatro tratamentos (0,00; 0,069; 0,137 e 0,204%, de HMB na base da MS total da dieta) projetadas para fornecer 5, 10 e 15 g/animal.dia^{-1} de HMB e observaram que, com o aumento percentual de HMB na dieta, o PF (p=0,069) e o GPMD (p=0,099) tenderam a diminuir de forma linear, já o CMS diminuiu de forma linear (p<0,006) e não houve diferença entre os tratamentos para EA com o aumento da

dose HMB. Em um segundo experimento, os mesmos autores, utilizando desta vez 80 novilhos mestiços (432 kg de peso médio inicial), confinados por um período de 50 dias, distribuídos em dois tratamentos, um com 0% de HMB e outro com uma dieta em que a concentração de HMB foi gradualmente aumentada (0,036-0,212% da MS da dieta), constataram uma tendência de diminuição de CMS (p=0,132), já o PF, GPMD e a EA não diferiram entre os tratamentos.

O maior ganho de peso vivo de bezerros em resposta a fontes suplementares de HMB observado em grande parte dos experimentos sugere que, a metionina foi o primeiro aminoácido limitante para o crescimento em bovinos. No entanto, mesmo quando a metionina não é limitante (fase de acabamento), bovinos podem responder a metioinina suplementar pelo seu papel como doadora do grupo metil para reações de transmetilação na biossíntese de lipídeos e outros compostos, além de sua função direta na síntese de proteínas (LUNDIQUIST, 1985; LOEST et al., 2002a).

Efeitos da metionina nesta função podem resultar em alterações no metabolismo lipídico, na digestão da fibra, na síntese de proteína bacteriana, no número de protozoários e nos padrões dos AGCC. (ARAMBEL et al., 1987; WILSON et al., 2008). A melhora na CA e na EA alimentar observados neste estudo pode ser atribuída, em parte, às possíveis alterações no metabolismo lipídico e ao aumento nos valores de degradabilidade da MS total observados no experimento 2 (Tabela 10).

GREENWOOD & TITGEMEYER (2000) sugeriram que para bovinos recebendo dieta a base de casca de soja, a metionina foi o primeiro aminoácido limitante. Em concordância com esta sugestão, ROBERT et al. (1996) explica que quando a maior parte da PNDR da dieta é suprida por alimentos protéicos derivados de soja, a metionina foi identificada como o AA mais limitante. No presente estudo, onde a dieta foi constituída principalmente de derivados de soja (casca de soja peletizada e farelo de soja), a metionina parece ter sido limitante, possivelmente, no início do período experimental, onde os animais ainda estavam em fase de crescimento.

Para animais na fase de acabamento os resultados são contraditórios, indicando que a dieta, a idade, o peso inicial e o tempo de confinamento podem influenciar as respostas à suplementação aminoacídica, necessitando de mais

estudos para maiores esclarecimentos.

5.1.3. Características da carcaça

Não foi observado diferença (p>0,05) entre os tratamentos para as características da carcaça (dianteiro, traseiro, rendimento de carcaça quente e espessura de gordura subcutânea) (Tabela 9). Com base na observação dos resultados de PF, GPT e GPMD, é razoável esperar que não houvesse diferenças para as características quantitativas das carcaças deste estudo.

Os resultados das características quantitativas da carcaça são apresentados na Tabela 9.

TABELA 9. Médias das características quantitativas da carcaça de bovinos Nelore submetidos a níveis crescentes (0, 5, 10, 15g/animal.dia^{-1}) de HMB(DL, 2-hidroxi-4-(metil) ácido butânico) na dieta

Características da carcaça	Tratamentos				CV (%)	p valor
	T0	T5	T10	T15		
Diant[1]	117,11	118,71	118,01	116,33	9,18	NS
Tras[2]	120,37	122,00	120,14	118,19	8,91	NS
RCQ[3]	55,87	56,53	55,16	55,51	8,56	NS
EGS[4]	2,50	2,46	2,27	2,35	46,40	NS

1 = Dianteiro (kg); 2 = Traseiro (kg); 3 = Rendimentos de carcaça quente (%); 4 = Espessura de gordura subcutânea (mm); CV = Coeficiente de variação (%); N.S. = Não significativo.
O valor de p foi obtido do teste de Duncan.

Segundo PACHECO et al. (2005) o principal fator que determina o peso da carcaça quente é o peso do animal ao abate, sendo elevada a correlação entre as duas variáveis (r = 0,93). Neste estudo o peso de abate não apresentou variação significativa. Quando os pesos de abate são similares, diferenças no peso de carcaça é resultado de diferenças no rendimento de carcaça (RC), o que não foram observados neste experimento.

VAN KOEVERING et al. (1994) estudaram os efeitos do HMB (0 ou 0,03% da MS da dieta) sobre as características das carcaças de 256 novilhos (329 kg de peso médio inicial) terminados em confinamento e abatidos depois de 105, 119 , 133 e 147 dias de alimentação e constataram alterações no peso de

carcaça quente (312 kg no tratamento com HMB contra 303 kg do tratamento controle) para os animais abatidos aos 105 dias, já para os animais abatidos aos 147 dias de confinamento, reportaram diminuição na área do músculo *Longissimus dorsi* (87,8 cm² tratamento controle contra 81,9 cm² tratamento com HMB) e menor espessura de gordura subcutânea (1,24 cm no tratamento controle e 1,09 cm no tratamento com HMB). Os novilhos alimentados com HMB tinham numericamente maiores escores de marmoreio que resultaram em uma tendência de graus mais elevados de qualidade de carcaça.

O mesmo comportamento não foi observado no estudo de HUSSEIN & BERGER (1995) e KLEMESRUD et al. (2000), que não notaram efeito da suplementação de lisina e metionina protegida no rúmen (RPLM) sobre as características da carcaça na terminação em confinamento de animais jovens. Respostas semelhantes foram observadas por CAMPBELL et al. (1997), os quais não encontram diferenças significativas nas características da carcaça, apenas uma tendência a terem melhores escores de marmorização, sugerindo alguma melhoria na disponibilidade de energia com a suplementação de AAE.

Em concordância com os resultados compilados (HUSSEIN & BERGER ,1995) e (CAMPBELL et al., 1997) e observados neste estudo, WILSON et al. (2008), concluíram que as características das carcaças não foram afetadas pelas dietas contendo HMB em dois experimentos conduzidos na Universidade do Texas (Texas Tech University), utilizando em ambos uma dieta de auto concentrado a base de milho floculado, como descrito anteriormente.

Pesquisas avaliando as características de carcaças de bovinos de corte utilizando HMB ou qualquer outra fonte suplementar de AAE na dieta são extremamente escassas, necessitando de trabalhos para confrontarem esses resultados.

5.2. Experimento 2

Os resultados referentes à inclusão de HMB nas rações sobre degradabilidade da MS e parâmetros a, b e c de ØRSKOV & MCDONALD (1979) estão apresentados na Tabela 10.

TABELA 10. Efeitos da dieta com níveis crescentes (0, 5, 10, 15g/anial.dia^{-1}) de HMB (DL, 2-hidroxi-4-(metil) ácido butânico) na degradabilidade da matéria seca

	Tratamentos					
Parâmetros	**T0**	**T5**	**T10**	**T15**	**CV (%)**	**p valor**
a	11,57	12,67	10,27	13,90	17,45	NS
b	67,15^{b}	69,30^{b}	69,62^{b}	76,70^{a}	4,92	<0,05
c	0,047^{a}	0,045^{a}	0,053^{a}	0,035^{b}	15,04	<0,05
Dp	78,73^{b}	81,98^{b}	79,90^{b}	90,60^{a}	4,63	<0,01
De (0,02)	58,27^{b}	60,65^{a}	60,65^{a}	62,05^{a}	2,04	<0,01
De (0,05)	43,73^{b}	45,53^{a}	45, 90^{a}	44,90^{a}	1,80	<0,05
De (0,08)	36,13^{b}	37,68^{a}	37,86^{a}	36,78^{b}	1,70	<0,01

a = fração de rápida degradação; b = fração potencialmente degradável; c = taxa horária de degradação da fração b; Dp = degradabilidade potencial; De = degradabilidade efetiva para as taxas de passagem de 2, 5 e 8%; CV = coeficiente de variação (%); NS = não significativo; O valor de p foi obtido do teste de Scott-Knott. Médias seguidas de letras diferentes na linha diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott.

A fração a (de rápida degradação) das dietas experimentais não foram alterados pela inclusão de HMB na ração (p>0,05). Em contrapartida a fração “b” (potencialmente degradável) (p<0,05), a fração “c” (taxa horária de degradação da fração potencialmente degradável) (p<0,05), a Dp (degradabilidade potencial) (p<0,01) e a De (degradabilidade efetiva) à uma taxa de passagem (kp) de 2% por hora (p<0,01), à 5% por hora (p<0,05) e à 8% por hora (p<0,01) foram afetadas pela inclusão de HMB na dieta.

A partir dos dados demostrados na Tabela 10, constatou-se que a inclusão de 15g/animal.dia^{-1} de HMB na ração influenciou positivamente a degradabilidade da fração “b” e a degradabilidade potencial. Em contrapartida, taxa horária de degradação da fração “b” (fração c) foi mais lenta para o tratamento 15g/animal.dia^{-1}. No entanto, a degradabilidade efetiva à Kp 2 e 5%h foram favorecidas para todos os tratamentos que incluíam HMB, já à Kp 8%h, as inclusões de 5 e 10 g/animal.dia^{-1} de HMB foram superiores aos demais tratamentos, podendo estar relacionado as melhores respostas de CA e EA obtidos no experimento 1.

Os valores médios do desaparecimento da MS das dietas experimentais nos diferentes tempos de incubação são apresentados na Figura 5.

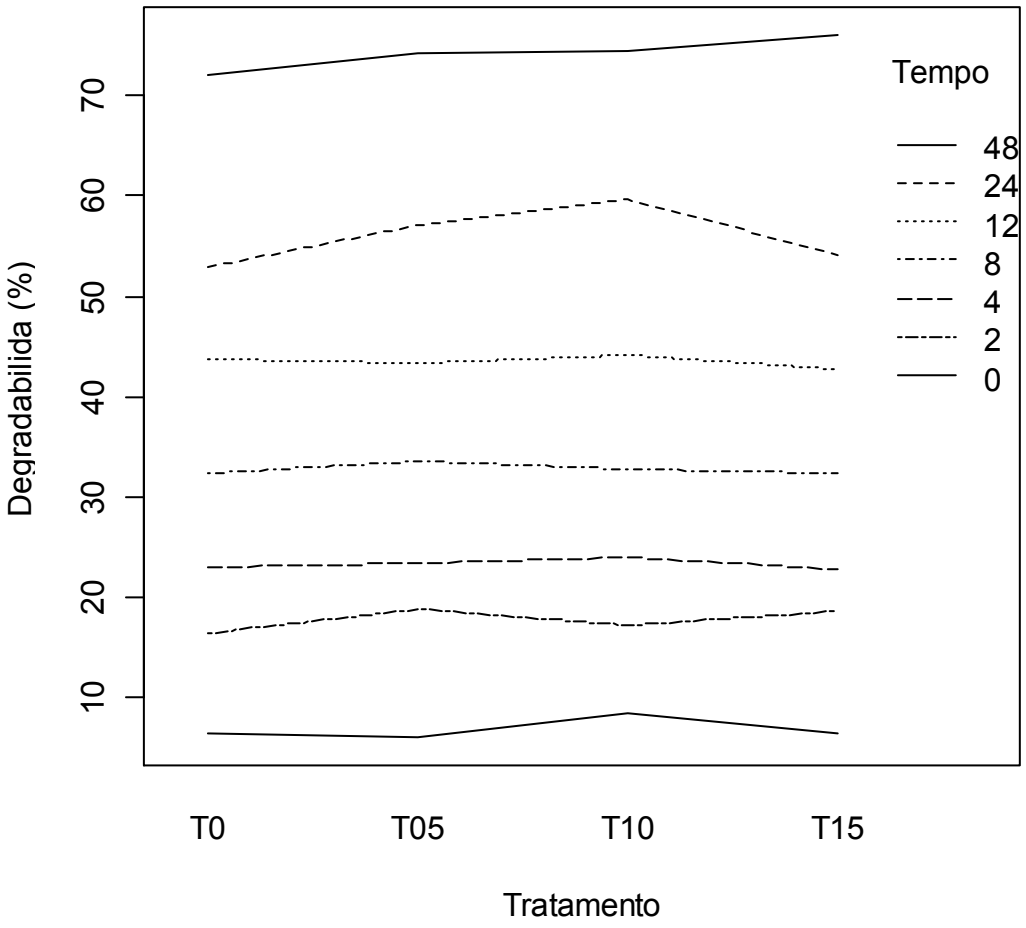

FIGURA 5. Efeito dos tratamentos na degradabilidade da MS medida nos tempos de incubação (0; 2; 4; 8; 12; 24; 48 horas)

Na Figura 5, observa-se que nas primeiras 12 horas de incubação não constatou-se diferença entre os tratamentos, entretanto, no tempo de 24h houve efeito dos tratamentos T05 (57.14%) e T10 (59.61%) ($p<0,05$) sobre a degradabilidade da MS em relação ao tratamento controle (52.86%), ratificando os resultados do experimento 1. Contudo, nas 48h de incubação não foi encontrado diferença ($p>0,05$) entre os tratamentos, entretanto, observa-se um aumento linear da degradabilidade da MS com o aumento nos níveis de HMB na dieta.

O efeito positivo do HMB, em especial na degradabilidade potencial, degradabilidade efetiva e na fração “b” é explicado possivelmente pela maior disponibilidade de energia no ambiente, uma vez que, em ensaio *in vitro* não ocorre absorção, nem tão pouco passagem do HMB. Desta forma, o HMB é

totalmente degradado, gerando um aporte maior carbono, que poderão ser usados pelos microrganismos ruminais para síntese de proteína bacteriana. Neste contexto, é razoável esperar que ocorra melhora na eficiência de síntese de proteína bacteriana, aumento no número de protozoários e provável melhora da degradabilidade da fibra, conforme sugerido por ARAMBEL et al. (1987). Esta melhora na degradabilidade dos tratamentos com HMB pode ser evidenciada nos tratamentos 5 e 10g/animal.dia^{-1}, nas primeira 24 h de incubação e para o tratamento 15g/animal.dia^{-1}, após 24h de incubação, conforme se observa na Figura 5.

Efeitos positivos na degradabilidade ruminal da MS e da FDN de rações suplementadas com DL- Metionina foram observados por HUISMAN et al. (1988) e NOFTSGER et al. (2005). VÁZQUEZ-AÑÓN, et al. (2001) relataram que a eficiência de síntese microbiana foi melhorada com o aumento da quantidade de HMB (0; 0,22; 0,88; 1,54 % MS) em estudo *in vitro*. Contrariando os resultados do presente estudo estes mesmos autores concluíram que a digestibilidade dos nutrientes não foi afetada pela inclusão de HMB.

NOFTSGER et al. (2003) avaliando *in vitro* o efeito da inclusão de HMB em três concentrações (0; 0,055 ou 0,110 % da MS total), constataram que a digestibilidade da matéria orgânica (MO) , hemicelulose e FDN não foi alterada pelos tratamentos, contudo, a digestibilidade da FDA apresentou efeito quadrático com a suplementação de HMB , com o nível de 0,055 %, tendo menor digestibilidade do que 0 ou 0,110 % da MS. Resultados semelhantes foram anotados por CAMPBELL et al. (1997) em ensaio *in situ,* trabalhando com uma dieta de alto concentrado e uma mistura de aminoácidos ao nível de inclusão de 6 g/dia^{-1} de DL-Metionia, reportaram que a digestibilidade da dieta não foi alterada pela inclusão da mistura de aminoácidos. WILSON et al. (2008) em estudo *in vitro,* trabalhando com dietas de alto concentrado (milho floculado) e inclusão de HMB na dose de 0,24% da MS total, também não observaram efeito na digestibilidade aparente ou verdadeira da MO.

Os resultados observados na degradabilidade da MS neste estudo parecem ser responsáveis, ao menos em parte, pelas respostas positivas da inclusão de HMB nas dietas sobre a CA e a EA constatadas no experimento 1. No entanto, os resultados vistos na literatura não são consistentes, confirmando a

necessidade mais estudos.

Na Figura 6 está demonstrada a curva de degradabilidade potencial, e parâmetros a, b, c de ØRSKOV & MCDONALD (1979).

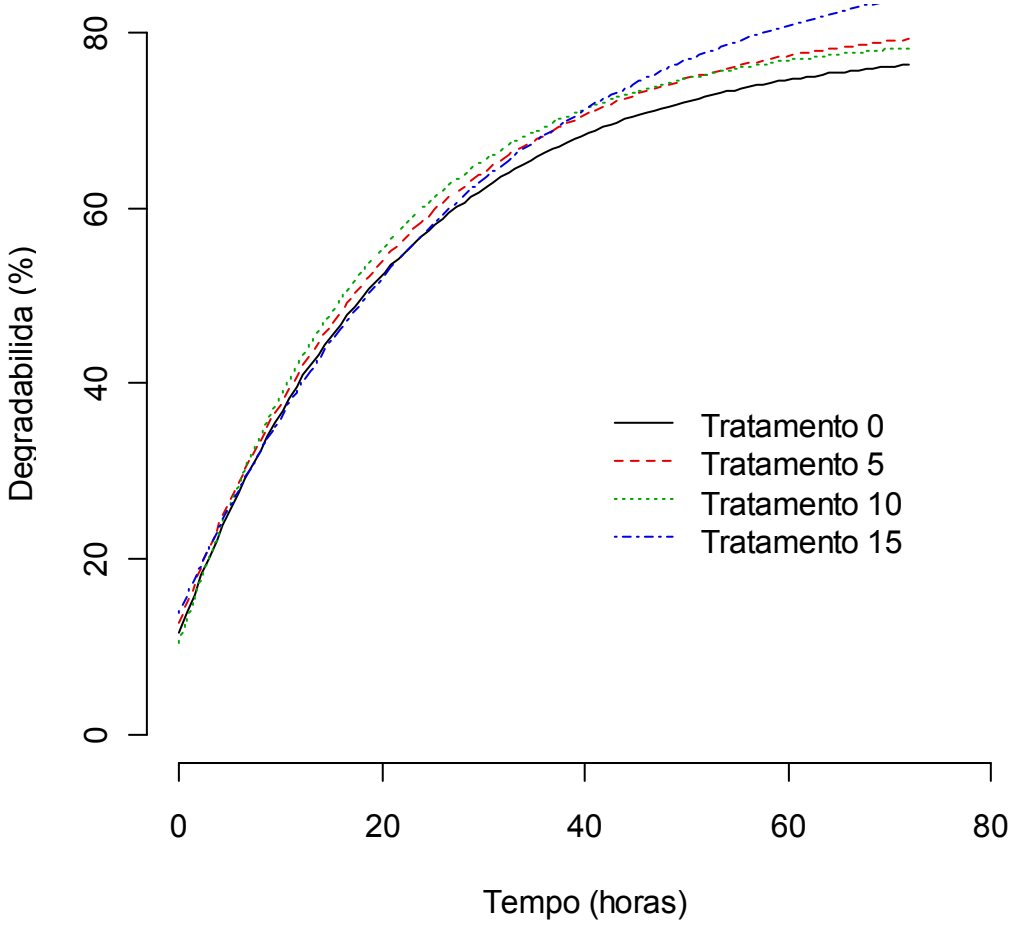

FIGURA 6 – Curva de degradação da MS da dieta contendo níveis crescentes de HMB (0; 5; 10; 15g/animal.dia^{-1}) pelos parâmetros ajustados de ØRSKOV & MAcDONALD (1979)

6. CONCLUSÕES

Em condições semelhantes à este experimento, a suplementação com HMB em nível 10g/animal.dia^{-1} tem potencial de melhorar a conversão alimentar e a eficiência alimentar de bovinos Nelore.

Os resultados sugerem que HMB tem potencial para ser utilizado para melhorar a degradabilidade da matéria seca de dietas de alto concentrado semelhante à deste experimento.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH CONCIL – AFRC. **Energy and Protein requerimens of Ruminants**. Wallingford, UK: CAB International, 1993. 159p.

AGRICULTURAL AND FOOD RESEARCH CONCIL – AFRC. **Technical committee on responses to nutrients**. Repost n.9. Nutritive requirements of rumenants animals: protein. Nutrition Abstract Reviews (Séries B), v. 62, n. 12, p. 787-835, 1992.

ALVES, D. D. NUTRIÇÃO AMINOACÍDICA DE BOVINOS. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 10, n. 3, p. 265-271, 2004.

ARAMBEL, M. J.; BARTLEY, E. E.; CAMAC, J. L.; DENNIS, S. M.; NAGARAJA, T. G.; DAYTON, A. D. Rumen degradability and intestinal availability of a protected methionine product and its effects on rumen fermentation, and passage rate of nutrients. **Nutrition Reports International**, Los Altos, v. 4, p. 661, 1987.

ARCHIBEQUE, S. L., BURNS, J. C., HUNTINGTON, G. B. Nitrogen metabolism of beef steers fed endophyte-free tall fescue hay: effects of ruminally protected methionine supplementation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80 p. 1344-1351, 2002.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 15.ed. Arlington: AOAC International, 1990. 1117p.

BATEMAN II, H. G.; WILLIAMS, C. C.; GANTT, D. T.; CHUNG,Y. H.; BEEM, A. E.; STANLEY C. C.; GOODIER, G. E.; HOYT, P. G.; WARD J. D., BUNTLING, L. D. Effects of zinc and sodium monensin on ruminal degradation of lysine-HCL and liquid 2- hydroxy-4 methylthiobutanoic acid. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87 p. 2571-2577, 2004.

BELASCO, I. J. Fate of carbon-14 labeled methionine hydroxy analog and methionine in the lactating dairy cow. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 63 p. 755, 1980.

BELASCO, I. J. Stability of methionine hydroxy analog in rumen fluid and its conversion in vitro to methionine by calf liver and kidney. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 55 p. 353-357, 1972.

BERTICS, S. J.; GRUMMER, R. R. Effects of fat and methionine hydroxy analog on prevention or alleviation of fatty liver induced by feed restriction. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82 p. 2731-2736, 1999.

BINDEL, D. J.; DROUILLARD, J. S.; TITGEMEYER, E. C.; WESSELS, R. H.; LOEST, C. A. Effects of ruminally protected choline and dietary fat on performance and blood metabolites of finishing heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78 p. 2497-2503, 2000.

BOIN, C.; TEDESCHI, L. O.; MANELLA, M. Q. Conceitos atuais de nutrição protéica para bovinos de corte em confinamento. In: Simpósio sobre bovinocultura de corte, 5., 2004, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2004. p. 300-351.

BRYANT, T. C.; RIVERA, J. D.; GALYEAN, M. L.; DUFF, G. C.; HALLFORD, D. M.; MONTGOMERY, T. H. Effects of dietary level of ruminally protected choline on performance and carcass characteristics of finishing beef steers and on growth and serum metabolites in lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77 p. 2893-2903, 1999.

CAMPBELL, C. G.; TITGEMEYER, E. C.; COCHRAN, R. C.; NAGARAJA, T. G.; BRANDT JR, R. T. Free amino acid supplementation to steers: effects on ruminal fermentation and performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75 p. 1167-1178, 1997.

CAMPOS, F. P.; NUSSIO, C. M. B.; NUSSIO, L.G. Técnica da digestibilidade verdadeira *in vitro* In: **Métodos de Análises de Alimentos** 1. ed. Piracicaba: Fealq, 2004, p. 97-100.

CHAING, P. K.; GORDON, R. K.; TAI, J.; ZENG, G. C.; DOCTOR, B. P.; PARDHASARADHI, K.; MCCANN, P. P. S-adenosylmethionine and methylation. **FASEB Journal**, Bethesda, v. 10 p. 471-480, 1996.

CHALUPA, W. Rumen bypass and protection of proteins and amino acids. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 58, p. 1198-1218, 1975.

CHALUPA, W.; SNIFFEN, C. J. Protein and amino acid nutrition of lactating dairy cattle in dairy nutrition management. **Veterinary Clinics of North America**, Philadelphia, v. 7, n. 2, p. 353-372, 1991.

CLARK, J. M.; KLUSMEYER, T. H.; CAMERON, M. R. Microbial protein synthesis and flows of nitrogen fractions to the duodenum of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, n. 8, p. 2304-2323, 1992.

DROUILLARD, J. S.; FLAKE, A. S.; KUHL, G. L. Effects of added fat, degradable intake protein, and ruminally-protected choline in diets of finishing steers. 1998 Cattlemen's Day, **Report of Progress 804**, Agricultural. Experiment. Station, Kansas State University, Manhattan, p. 71-75, 1998 Disponível em: http://www.oznet.ksu.edu/library/lvstk2/srp804.pdf. Acesso em: 21 maio 2011.

FERNANDES, J. J. R. F.; PIRES, A. P.; OLIVEIRA JR., R. C.; SANTOS, F. A. P.; SUSIN, I.; CARVALHO, E. R. Farelo de soja em substituição à ureia em dietas para bovinos de corte em crescimento. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 10, n. 2, p. 373-378, 2009.

FERNANDES, L. B.; FRANZOLIN, R.; FRANCO, A. V. M.; CARVALHO, G. Aditivos orgânicos no suplemento concentrado de bovinos de corte mantidos em pastagem. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 9, n.2,

p. 231-238, 2008.

FINKELSTEIN, J. D.. Methionine metabolism in mammals**. Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 1 p. 228- 237, 1990.

FOX, D. G.; TEDESCHI, L. O. Predicting dietary amino acid adequacy for ruminants . In: D'MELLO, J. P. F. **Amino Acids in Animal Nutrition**. Cambridge, MA: CABI Publishing, 2003. p. 389-410.

GIL, L. A.; SHIRLEY, R. L.; MOORE, J. E. Effect of methionine hydroxy analog on growth, amino acid content, and catabolic products of glucolytic rumen bacteria in vitro. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 56 p. 757-762, 1973.

GOODALL, S. R.; BRETHOUR, J. R. Rumen protected choline and free betaine effects of finishing feedlot steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77(Suppl. 1) p. 264-265 (Abstr.), 1999.

GRAULET, B.; RICHARD, C.; ROBERT, J. C. Methionine availability in plasma of dairy cows supplemented with methionine hydroxyl analog isopropyl ester. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88 p. 3640-3649, 2005.

GRECO, L. F. **Suplementação de vacas HPB e vacas ½ HPB ½ Jersey mantidas em pastagem tropical com o éster isopropílico do análogo de metionina (HMBi)**. Piracicaba , 2008. 80f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba-SP.

GREENWOOD, R. H.; TITGEMEYER, E. C. Limiting amino acids for growing Holstein steers limit-fed soybean hull-based diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78 p. 1997-2004, 2000.

HERSOM , M. J.; VÁZQUEZ-AÑÓN, M.; LADYMAN, K. P.; KERLEY, M. S.; ARTHINGTON, J. D. Effect of Methionine Source and Level on Performance of Growing Beff Calves Consuming Forage-Based Diets. **The Professional Animal Scientist**, Charlottesville, v. 25 p. 465–474, 2009.

HUISMAN, J.; VAN WEERDEN, E. J.; VAN LEEUWEN, P.; KOCH, F. Effect of methionine compounds on rumen activity of cows. Neth. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 36 p. 111-117, 1988.

HUSSEIN, H. S.; BERGER, L. L. Feedlot performance and carcass characteristics of Holstein steers as affected by source of dietary protein and level of ruminally protected lysine and methionine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 12, p. 3503-3509, 1995.

JONES, B. A.; MOHAMED, O. E.; PRANGE, R. W.; SATTER, L. D. Degradation of methionine hydroxy analog in the rumen of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71 p. 525- 529, 1988.

KLEMESRUD, M.J.; KLOPFENSTEIN, R.A.; STOCK, R.A.; LEWIS, A. J.; HEROLD, D. W. Effect of dietary concentration of metabolizable lysine on finishing cattle performance. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.78, n.4, p.1060-1066, 2000.

KOENIG, K. M.; RODE, L. M.; KNIGHT, C. D.; MCCULLOUGH, P. R. Ruminal Escape, Gastrointestinal Absorption, and Response of Serum Methionine to Supplementation of Liquid Methionine Hydroxy Analog in Dairy Cows **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82 p. 355-361, 1999.

KOENIG, K. M.; RODE, L. M.; KNIGHT, C. D.; VÁSQUEZ-AÑÓN, M. Rumen degradation and availability of various amounts of liquid methionine hydroxy analog in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85 p. 930-938, 2002.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica.** Tradução de W. R. N. Lodi, e A. A. Simões. São Paulo: Sarvier, Terceira Edição, 1999. Tradução de: Principles of biochemistry.

LINO, F. A.; PEREIRA, M. L. R.; BENTO, E. A.; MELO, A. H. F.; FERNANDES, J. J. R.; MIYAGI, E. S.; ARNHOLD, E. Tecido não tecido como alternativa de substituição aos sacos da Ankom® na determinação da digestibilidade *in vitro.*In: Congresso Brasileiro de Zootecnia, XXI, 2011, Maceió. **Anais eletrônicos...** [CD-Rom], Maceió: UFAL, 2011.

LOBLEY, G. E. Control of the metabolic fate of amino acids in ruminants: a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70 p. 3264-3275, 1992.

LOBLEY, G. E.; WESTER, T.J.; CALDER, A. G.; PARKER, D. S.; DIBNER, J. J.; VÁSQUEZ-AÑON, M. Absorption of 2-hidroxy-4-methylthiobutyrate and conversion to methionine in lambs. **Jornal of Dairy Science,** Champaign, Albany, v. 89, p. 1071-1080, 2006.

LOEST, C. A.; TITGEMEYER, E. C.; DROUILLARD, J. S.; BLASI, D. A., BLINDEL, D. J. Soybean hulls as a primary ingredient in forage-free diets for limit-fed growing cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79 p. 766-774, 2001.

LOEST, C. A.; TITGEMEYER, E. C.; DROUILLARD, J. S.; COETZER, C. M.; HUNTER, R. D.; BINDEL, J. D.; LAMBERT, B. D. Supplemental betaine and peroxide-treated feather meal for finishing cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80 p. 2234-2240, 2002b.

LOEST, C. A.; TITGEMEYER, E. C.; ST-JEAN, G.; VAN METRE, D. C.; SMITH, J. S.. Methionine as a methyl group donor in growing cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80 p. 2197- 2206, 2002a.

LOOR, J. J.; HERBEIN, J. H.; POLAN, C. E. Trans 18:1 and 18:2 isomers in blood plasma and milk fat of grazing cows fed a grain supplement containing solvent-extracted or mechanically extracted soybean meal. **Jornal of Dairy Science**, Champaign, v. 85 p. 1197-1207, 2002.

LUNDQUIST, R. G.; LINN, J. G., OTTERBY, D. E. Influence of dietary energy and protein on yield and composition of milk from cows fed methionine hydroxy analog. **Jornal of Dairy Science**, Champaign, v. 66 p. 475-491, 1983.

LUNDQUIST, R. G.; OTTERBY, D. E.; LINN, J. G. Influence of three concentrations of d,l-methionine or methionine hydroxy analog on milk yield and milk composition. **Jornal of Dairy Science**, Champaign, v. 68 p. 3350-3354, 1985.

MCCARTHY, R D.; PORTER, G. A.; GRIEL JR, L. C. Bovine ketosis and depressed fat test in milk: A problem of methionine metabolism and serum lipoprotein aberration. **Jornal of Dairy Science**, Champaign, v. 51 p. 459-462, 1968.

MCCOLLUM, M. Q., M. VÁZQUEZ-ANÕN, J. J. DIBNER, AND K. E. WEBB, JR. Absorption of 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid by isolated sheep ruminal and omasal epithelia. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p.1078–1083, 2000.

MERCHEN, N. R.; TITGEMEYER, E. C.. Manipulation of amino acid supply to the growing ruminant. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70 p. 3238-3247, 1992.

MITCHELL, A. D., CHAPPELL, A., KNOX, K. L. Metabolism of betaine in the ruminant. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 49 p. 764-774, 1979.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requeriments of dairy cattle**. 6. ed. rev. Washinton, D.C.: 1989. 157p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of Beef Cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: 1996. 244p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington: National Academic Press, 2001. 381 p.

NICHOLS, J.R.; SCHINGOETHE, D.J.; MAIGA, H.A. Evaluation of corn distillers grains and ruminally protected lysine and methionine for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 2, p. 482-491, 1998.

NOFTSGER, S. M.; ST. PIERRE, N. R., KARNATI, S. K. R.; FIRKINS, J. L. Effects of 2- hydroxy-4-(methylthio) butanoic acid (HMB) on microbial growth in continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 86 p. 2629-2636, 2003.

NOFTSGER, S.; ST-PIERRE, N. R.; SYLVESTER, J. T. Determination of rumen degradability and ruminal effects of three sources of methionine in lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88 p.223-237, 2005.

NOZIERE, P.; RICHARD, C. ; GRAULET, B.; DURAND, D.; RE´MOND, D.; ROBERT, J. C. Investigation of the site of absorption and metabolism of HMBi and HMB in sheep. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87 (Suppl. 1), p. 220, 2004.

OLIVEIRA JUNIOR, R. C.; PIRES, A. V.; FERNANDES, J. J. R. SANTOS, F. A.; SUSIN, I.; ARAUJO, R. C. Efeitos de fontes nitrogenadas, em dietas com alto teor de concentrado para bovinos de corte, sobre o consumo de matéria seca, digestibilidade e degradabilidade dos nutrientes. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, p. 207-216, 2006.

OLIVEIRA, L. G.; OLIVEIRA, J. A.; FAVORETTO, A. O.; OLIVEIRA, M. A.; PIRES, M. A.; FERREIRA, R. N. Avaliação da digestibilidade *in vitro* das dietas e desempenho de bovinos confinados suplementados com HMTBa, HMBi e lisofosfolipídios.In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 47., 2010, Salvador. **Anais eletrônicos...** [CD-ROM], Salvador: UFBA, 2010.

ØRSKOV, E.R.; HOVELL, F.D.; MOULD, F. Uso de la tecnica de la bolsa de nylon para la evaluación de los alimentos. **Producción Animal Tropical**, Santo Domingo, n. 5, p. 213, 1980.

ØRSKOV, E.R.; MCDONALD, I. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. **Journal of Agriculture Science**, Cambridge, v. 92, p. 499-453, 1979.

OWENS, F.N.; ZINN, R. Protein metabolism of ruminant animal. In: CHURCH, D.C. (Ed.). **The ruminant animal: digestive physiology and nutrition**. Englewood Cliffs: Simon & Schuster, 1988. cap. 12, p. 227-249.

PACHECO, P. S.; SILVA, J. H. S.; RESTLE,J. ARBOITTE, M. Z.; BRONDANI, I. L.; ALVES FILHO, D. C.; FREITAS, A. K. Características quantitativas da carcaça de novilhos jovens e superjovens de diferentes grupos genéticos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.34, n.5, p.1666-1677, 2005.

PATTERSON, J.A.; KUNG J. Metabolism of DL-methionine and methionine analogs by rumen microorganisms. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 71, p. 3292-3299, 1988.

PATTON, R. A.; MCCARTHY, R. D; KESKY, L. G.; GRIEL JR, L. G.; BRAUMGARDT B. R.. Effect of feeding methionine hydroxy analog on the concentration of protozoa in the rumen of sheep. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 53 p. 933-935, 1970.

PIRES, A.V.; OLIVEIRA JUNIOR, R. C.; FERNANDES, J. J. R.; SUSIN, I.; SANTOS, F. A. P. ARAÚJO, R. C.; GOULART, R. C. D. Substituição do farelo de soja por uréia ou amiréia na dieta de bovinos de corte confinados. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v. 39, p. 937-942, 2004.

POLAN, C. E.; CHANDLER, P. T.; MILLER, C. N. Methionine hydroxy analog: varying levels for lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 53 p.

607-610, 1970.

R DEVELOPMENT CORE TEAM (2011). **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL http://www.R-project.org.

RAY, S. R.; CROOM, W. J.; RAKES JR., A. H.; LINNERUD, A. C.; BRITT, J. H. Effects of methionine hydroxy analog on milk secretion and ruminal and blood variables of dairy cows fed a low fiber diet. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 66 p. 2084-2092, 1983.

REZENDE, P. L. P. **Desempenho na fase de recria e características da carcaça de bovinos de origem leiteira submetidos a diferentes estratégias de alimentação.** Goiânia, 2010. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO.

RICHARDSON, C. R.; HATFIELD, E. E. The limiting amino acids in growing cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 46 p. 740-745, 1978.

ROBERT, J. C., C. RICHARD, C.; BOUZA, B. Influence of monomer or dimer forms of isopropyl ester of HMB on the supply of metabolizable methionine to the blood of ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84 (Suppl. 1), p. 35. (Abstr.), 2001.

ROBERT, J. C.; SLOAN, B. K.; DENIS, C. The effect of graded amounts of rumen protected methionine on lactional responses in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Albany, v.79, suppl. 1, p.256-256, 1996. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 1996, Corvallis.

ROBERT, J.C., Ballet, N.; Richard, C.; Bouza, B. Ruminal metabolism of 2-hydroxy-4 (methylthio) butanoic acid isopropyl ester (HMBi). **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85 (Suppl. 1), p. 240. (Abstr.), 2002a.

ROBERT, J.C.Influence de 2-hydroxy-4 (methylthio) butanoic acid isopropyl ester (HMBi) on the digestibility of organic matter and energy value of corn silage mensured in vitro. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Albany, v. 85, suppl. 1, p. 240-240, 2002b. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2002b, Quebec.

ROBERT, J.C; D'ALFONSO, T.; ETAVE, G. DEPRES, E.; BOUZA, B. Quantifying the metabolisable methionine contribuition of a liquid por powder presentation of 2-hydroxy-4 (methyltio) butanoic acid isopropyl Ester (HMBi). **Journal of Dairy Science**, Champaign, Albany, v. 85, suppl. 1, p. 71-71, 2002c. Apresentado no JOINT ANNUAL MEETING OF ADSA & ASAS, 2002c, Quebec.

ROBINSON, P.H.; CHALUPA, W.; SNIFFEN, C.J. Ruminally protected lysine or lysine and methionine for lactating dairy cows fed a ration designed to meet requirements for microbial and postruminal protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 5, p. 1364-1373, 1998.

ROSSER, R. A.; POLAN, C. E.; CHANDLER, P. T.; BIBB, T. L. Effects of whey components and methionine analog on bovine milk fat production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 54 p. 1807-1815, 1971.

RULQUIN, H. Intérêts et limites d'un apport de méthionine et de lysine dans l'alimentation des vaches laitières. **INRA Productions Animales**, Paris, v. 5, n. 1, p. 29-36, 1992.

RULQUIN, H.; GRAULET, B.; DELABY, L.; ROBERT, J. C. Effect of different forms of methionine on lactational performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, p. 4387-4394, 2006.

RULQUIN, H.; VÉRITÉ, R. Amino acid nutrition of dairy cows: productive effects and animal requirements. In: GARNSWORTHY, P.C., COLE, D.J.A. (Ed.). **Recent advances in animal nutrition**. Nottingham: Nottingham University Press, 1993. p. 55-77.

SANTOS, F.A.P. Metabolismo de proteínas. In: **Nutrição de Ruminantes**. 1. ed. Jaboticabal: Telma Teresinha Berchielli, Alexandere Vaz Pires e Simone Gisele de Oliveira, 2006. cap. 10, p. 255-284.

SCHINGOETHE, D. J. Balancing amino acid needs of the dairy cow. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 60, p. 153-160. 1996.

SCHWAB, C. G. Amino acid nutrition of the dairy cow: current status. In: CORNELL NUTRITION CONFERENCE FOR FEED MANUFACTURES, 58, 1996, Ithaca. **Proceedings…**, Ithaca: Cornell University, 1996. p. 184-198.

SCHWAB, C. G. Protected proteins and amino acids for ruminants. in **Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding.** Wallace R. J. & Chesson A., ed. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim (Federal Republic of Germany) and VCH Publishers Inc., New York, NY. 1995. p. 115-141.

SCHWAB, C. G. WHITEHOUSE, N. L.; MCLAUGHLIN, A. M.;. KADARIYA, R. K; ST-PIERRE, N. R.; SLOAN, B. K.; GILL, R. M.; ROBERT, J. C. Use of milk protein concentrations to estimate the "methionine bioavailability" of two forms of 2-hydroxy-4-methylthio butanoic acid (HMB) for lactating cows **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84 (Suppl.1), p. 146. (Abstr.) 2001.

SCHWAB, C. G.; BOZAK, C. K.; WHITEHOUS, N. L.; MESSBAH; M. M. A. Amino acid limitation and flow to duodenum at four stages of lactation. 1. Sequences of lysine and methionine limitation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 75, p. 3486-3502, 1992.

SNIFFEN, C. B.; O' CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J., A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: Carbohydrate and protein Avaliabiliy. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 3562-3577. 1992.

ST-PIERRE, N. R.; SYLVESTER; J. T. Effects of 2-hydroxy-4- (methylthio) butanoic acid (HMB) and its isopropyl ester on milk production and composition by

Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, p. 2487-2497, 2005.

VALADARES FILHO, S. C.; MAGALHÃES, K. A.; ROCHA JUNIOR, V. R.; CAPELLE, E. R. **Tabelas brasileiras de composição de alimentos para bovinos**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2006, cap. 4-6, p. 219-309.

VAN KOEVERING, M. T.; DOLEZAL, H. G.; GILL, D. R.; OWENS, F. N.; STRASIA, C. A., BUCHANAN, D. S.; LAKE, R.; NISSEN, S. Effects of beta-hydroxy-beta-methyl butyrate on performance and carcass quality of feedlot steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72 p.1927-1935, 1994.

VAN SOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 74, p. 3583-3597, 1991.

VÁZQUEZ-AÑÓN, M.; VARGA, G.; MCCULLOUGH, P.;. CASSIDY, T. Effects of Alimet® on nutrient digestibility, bacterial protein synthesis, and ruminal disappearance during continuous culture. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n.1, p. 159-166, 2001.

VEIRA, D. M., SEOANE, J. R., PROUX, J. G. Utilization of grass silage by growing cattle: effect of a supplement containing ruminally protected amino acids. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69 p. 4703-4709, 1991.

WILKERSON, V. A.; KLOPFENSTEIN T. J.; BRITTON R. A.; STOCK R. A.; MILLER, P. S. Metabolizable protein and amino acid requirements in growing cattle. **Journal of animal Science**, Champaign, v. 71 p. 2777-2784, 1993.

WILSON, K. R.; ABNEY, C. S.; VASCONCELOS, J. T.; VÁZQUEZ-AÑÓN, M.; MCMENIMAN, J. P.; GALYEAN, M. L. Effects of 2-hydroxy-4-(methylthio)-butanoic acid on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle and on fermentation in continuous culture. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86 p. 1951-1962, 2008.

WINDSCHITL, P. M.; STERN, M. D. Influence of methionine derivatives on effluent flow of methionine from continuous culture of ruminal bacteria. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66 p. 2937-2947, 1988.

XU, S.; HARRISON, J.H.; CHALUPA, W. The effect of ruminal bypass lysine and methionine on milk yield and composition of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 4, p. 1062-1077, 1998.

YAO, Z.; VANCE D. E. The active synthesis of phosphatidylcholine is required for very low density lipoprotein secretion from rat hepatocytes. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 263 p. 2998-3004, 1988.

ZINN, R. A. Otimização da proteína em dietas de confinamento: ajuste da proteína. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA DE CORTE, 6., 2007, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2007. p. 287-294