

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-graduação em Zootecnia



Dissertação de Mestrado

**Efeito da utilização da metionina protegida da degradação ruminal no
desempenho reprodutivo, produtivo e na tolerância ao estresse térmico
de vacas nelore**

Kauani Borges Cardoso

Kauani Borges Cardoso

Efeito da utilização da metionina protegida da degradação ruminal no desempenho reprodutivo, produtivo e na tolerância ao estresse térmico de vacas nelore

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Cássio Cassal Brauner

Coorientador: Eduardo Schimitt

Pelotas, 2024

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

C268e Cardoso, Kauani Borges

Efeito da utilização da metionina protegida da degradação ruminal no desempenho reprodutivo, produtivo e na tolerância ao estresse térmico de vacas nelore [recurso eletrônico] / Kauani Borges Cardoso ; Cássio Cassal Brauner, orientador. — Pelotas, 2024.
69 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2024.

1. Aminoácidos. 2. Calor. 3. Ganho de peso. 4. Reprodução. I. Brauner, Cássio Cassal, orient. II. Título.

CDD 636.29108926

Kauani Borges Cardoso

Efeito da utilização da metionina protegida da degradação ruminal no desempenho reprodutivo, produtivo e na tolerância ao estresse térmico de vacas nelore

Dissertação aprovada, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Produção Animal, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data de Defesa: 29/02/2024

Banca examinadora:

Prof. Dr. Cassio Cassal Brauner
Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil.
(Orientador)

Prof. Dr. Bernardo Garziera Gasperin
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.

Prof. Dr. Carolina Bespalhok Jacometo
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil.

Prof. Dr. Philippe Moriel
Doutorado em Ruminant Nutrition pela University of Florida, UF, Estados Unidos.

Dedico este trabalho a minha família.

Agradecimentos

A minha família, agradeço por sempre estarem presentes, por apoiarem as minhas decisões e pelo amor incondicional.

Aos meus amigos, pelo carinho e paciência em todos os momentos ao longo dessa caminhada.

Ao Nupeec HUB, em especial ao Time ELO pelo apoio e incentivo e por tornarem possível a execução desse trabalho.

Aos alunos de Mestrado, Doutorado, Iniciação Científica, estagiários e em especial, Vinicius Izquierdo, Jordani Cardoso, Matheus Meireles e Aguimar Filho, pelo apoio na execução das atividades de laboratório e campo.

Aos professores, Cássio Cassal Brauner e Eduardo Schmitt, pela orientação e auxílio durante a minha trajetória acadêmica.

A empresa Adisseo e os Órgãos de Fomento à Pesquisa, pelo apoio e financiamento do projeto.

A Deus, por me conceder o privilégio de conhecer pessoas tão especiais ao longo dessa jornada.

Obrigada!

Resumo

CARDOSO, Kauani Borges. **Efeito da utilização da metionina protegida da degradação ruminal no desempenho reprodutivo, produtivo e na tolerância ao estresse térmico de vacas nelore.** Orientador: Cássio Cassal Brauner. 2024. 70f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2024.

O estresse térmico é um desafio para os sistemas de produção, devido os seus efeitos no metabolismo e desempenho animal, com isso nosso objetivo foi avaliar os efeitos da suplementação de metionina protegida da degradação ruminal na temperatura interna e externa, na concentração sanguínea de aminoácidos e no desempenho produtivo e reprodutivo de vacas de corte submetidas à estação reprodutiva com alto THI. Foram utilizadas 900 fêmeas, da raça nelore, distribuídas uniformemente em dois grupos, Grupo Controle (GC; n= 450) e Grupo Metionina (GM; n= 450). A adição de metionina protegida da degradação ruminal (Smartamine® M, Adisseo, Antony, França), aconteceu na proporção de 3g para cada 100g do suplemento mineral. A temperatura interna (TI) e externa (TE) foi avaliada entre os dias -9 e -2, em relação ao dia da inseminação artificial. As amostras de sangue foram coletadas através da punção da veia coccígea, nos dias -28, -9, 14 e 28, para avaliação de aminoácidos plasmáticos, HSP e progesterona. Foram avaliados ganho de peso das vacas e bezerros e escore de condição corporal (ECC). As variáveis reprodutivas foram avaliadas por ultrassonográfica e o diagnóstico de gestação foi realizado 31±2 e 60±2 dias após a IATF. Foram considerados os efeitos fixos de tratamento (metionina e controle), ordem do parto (primíparas e múltiparas) e suas interações. Os dados de temperatura, metabolismo e desempenho foram avaliados por medidas repetidas. Os dados binários (taxa de prenhez aos 30 e 60) dias foram comparados através do teste de qui-quadrado. O THI médio variou entre 67 e 78. Não houve efeito da suplementação com metionina na temperatura interna (GC=38,92±0,036 e GM=38,93±0,036; P=0,82), na temperatura externa (GC= 32,80±0,42 e GM=33,19±0,45; P=0,53) e na taxa de prenhez (GC= 65% e GM=65,4; P=0,92). Para o ganho médio diário (GMD) das vacas, encontramos um efeito positivo da suplementação com metionina (GC= -0,246±0,02; GM=0,140±0,02, P<0,001). Para o desempenho dos bezerros, o grupo metionina foi superior em comparação com os animais controle (GC=0,837±0,008 e GM=0,884±0,008; P<0,001). No perfil metabólico a suplementação com metionina melhorou o balanço de aminoácidos plasmáticos e a expressão relativa da HSP 70 (p<0,05). Desta forma, conclui-se que a suplementação com metionina protegida da degradação ruminal, melhora o ganho de peso de vacas e bezerros, a concentração de aminoácidos plasmáticos e a expressão gênica da HSP70. No entanto não apresentou efeito na temperatura corporal e no desempenho reprodutivo.

Palavras-chaves: Aminoácidos; Calor; Ganho de peso; Reprodução.

Abstract

CARDOSO, Kauani Borges. **Effect of using of rumen-protected methionine on the reproductive and productive performance and tolerance to heat stress of nelore cows.** Advisor: Cássio Cassal Brauner. 2024. 70f. Dissertation (Master's in Animal Production) – Postgraduate Program in Animal Science, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2024.

Heat stress is a challenge for production systems, due to its effects on metabolism and animal performance, therefore our objective was to evaluate the effects of methionine supplementation protected from ruminal degradation on internal and external temperature, blood concentration of amino acids and on the productive and reproductive performance of beef cows subjected to the reproductive season with high THI. 900 Nelore females were used, distributed evenly into two groups, Control Group (CG; n= 450) and Methionine Group (GM; n= 450). The addition of methionine protected from ruminal degradation (Smartamine® M, Adisseo, Antony, France) occurred at a proportion of 3g for every 100g of mineral supplement. Internal (IT) and external (TE) temperatures were evaluated between days -9 and -2, in relation to the day of artificial insemination. Blood samples were collected through puncture of the coccygeal vein, on days -28, -9, 14 and 28, to evaluate plasma amino acids, HSP and progesterone. Weight gain of cows and calves and body condition score (BCS) were evaluated. Reproductive variables were evaluated by ultrasound and pregnancy diagnosis was made 31 ± 2 and 60 ± 2 days after TAI. The fixed effects of treatment (methionine and control), birth order (primiparous and multiparous) and their interactions were considered. Temperature, metabolism and performance data were evaluated by repeated measurements. Binary data (pregnancy rate at 30 and 60 days) were compared using the chi-square test. The average THI ranged between 67 and 78. There was no effect of methionine supplementation on internal temperature (GC= 38.92 ± 0.036 and GM= 38.93 ± 0.036 ; $P=0.82$), on external temperature (GC= 32.80 ± 0.42 and GM= 33.19 ± 0.45 ; $P=0.53$) and pregnancy rate (GC= 65% and GM=65.4; $P=0.92$). For the average daily gain (ADG) of cows, we found a positive effect of methionine supplementation (GC= -0.246 ± 0.02 ; GM= 0.140 ± 0.02 , $P<0.001$). For the calves' performance, the methionine group was superior compared to the control animals (GC= 0.837 ± 0.008 and GM= 0.884 ± 0.008 ; $P<0.001$). In the metabolic profile, supplementation with methionine improved the balance of plasma amino acids and the relative expression of HSP 70 ($p<0.05$). Therefore, it is concluded that supplementation with methionine, protected from ruminal degradation, improves the weight gain of cows and calves, the concentration of plasma amino acids and the gene expression of HSP70. However, it had no effect on body temperature and reproductive performance.

Keywords: Amino acids; Heat; Weight gain; Reproduction.

Lista de Figuras

Figura 1. Visão geral do catabolismo de amino ácidos em mamíferos. Os grupos amino e os esqueletos carbônicos seguem caminhos distintos, mas interligados	28
Figura 2. Processo de biotransformação da metionina	34
Figura 3. ^A Quadrado com pastagem classificada com escore 1 em determinada UE. ^B Quadrado com pastagem classificada com escore 5 na mesma UE.....	38
Figura 4. ^A Termômetro ThermoChron® acoplado ao dispositivo intravaginal. ^B Termômetro ThermoChron® em um cabresto posicionado na nuca do animal para aferição da temperatura externa	39
Figura 5. Cronograma de coletas do experimento realizado com vacas nelores suplementadas ou não com metionina protegida da degradação ruminal	41
Figura 6. THI médio, mínimo e máximo medido durante 6 dias consecutivos de cada repetição, mas apresentado em intervalos de 1 hora. Calculado de acordo com NRC (1971) como: $THI = (1,8 \times Tdb + 32) - [(0,55 - 0,0055 \times UR) \times (1,8 \times T - 26)]$, onde T é a temperatura do ar (°C) e UR a umidade relativa do ar (%).	43
Figura 7. Temperatura Interna dos animais do grupo controle e metionina, apresentada em intervalos de 60 minutos. Foi encontrado efeito estatísticos para as horas (P<0,001), para tratamento (P=0,817) e a interação entre tratamento e hora (P=0,470) não observamos efeito.	44
Figura 8. Temperatura externa dos animais do grupo controle e metionina, apresentada em intervalos de 60 minutos. Foi encontrado efeito estatístico para as horas (P<0,001), para tratamento (P=0,530) e a interação entre tratamento e hora (P=0,584) não observamos efeito.	45
Figura 9. ^A Tamanho médio do folículo pré-ovulatório (mm) avaliado no D-2 e D0 em relação ao protocolo de IATF. ^B Progesterona plasmática (ng/mL) avaliada no D14 em relação ao protocolo de IATF. ^C Tamanho de corpo lúteo (mm) avaliado no D14 em relação ao protocolo IATF. ^D Volume de corpo lúteo (mm ³) avaliado no D14 em relação ao protocolo de IATF.	46
Figura 10. Peso corporal de vacas nelore apresentado em quilogramas avaliado em três momentos (D-28, D-9 e D28).	48

Figura 11. Ganho médio diário de vacas nelore, apresentado em kg/dia. GMD 1 corresponde ao período entre D-28 e D-9, totalizando 19 dias. GMD 2 corresponde ao período entre o D-9 e D28, totalizando 37 dias.....	49
Figura 12. Escore de Condição Corporal de vacas nelore ao longo do período experimental.	50

Lista de Tabelas

Tabela 1. Aminoácidos condicionalmente essenciais e seus precursores metabólicos.....	23
Tabela 2. Distribuição dos animais em relação ao início da suplementação de acordo com os meses de verão	37
Tabela 3. Comparação pelo teste qui-quadrado para perdas embrionárias (%) e taxa de prenhez (%) entre vacas controle e metionina.....	47
Tabela 4. Perfil de aminoácidos plasmáticos de vacas da raça nelore suplementadas com metionina e submetidas a alto THI.	52
Tabela 5. Expressão relativa das Proteínas de Choque Térmico (HSP) de vacas da raça nelore submetidas a altas temperaturas e suplementadas ou não com metionina protegida da degradação ruminal.	54

Sumário

1 Introdução	13
Capítulo 2	15
2.1 Revisão Bibliográfica	15
2.1.1. Estresse térmico e seus efeitos no metabolismo	16
2.1.2. Estresse térmico e seus efeitos no desempenho animal	18
2.1.3. Estresse térmico e seus efeitos na reprodução	19
2.1.4 Metabolismo proteico	21
2.1.5. Metabolismo proteico no estresse	23
2.1.6. Função dos aminoácidos no organismo	24
2.1.7. Digestão e absorção de proteínas e aminoácidos	26
2.1.8. HSPs e seus efeitos para o organismo	31
2.1.9 Suplementação com metionina	32
2.1.10 Biotransformação da metionina	33
Capítulo 3	36
Materiais e Métodos	36
Capítulo 4	43
Resultados e Discussão	43
Capítulo 5	56
Considerações Finais	56
Capítulo 6	57
Referências Bibliográficas	57

1 Introdução

As mudanças climáticas são um desafio para os sistemas de produção, especialmente em países de clima quente e úmido como é o caso das regiões tropicais (Garcia, 2013). Mas esse problema não é só brasileiro, uma vez que na indústria leiteira dos EUA, o estresse térmico é responsável por elevadas perdas financeiras, calculadas em aproximadamente US\$ 1,5 bilhão (Key et al. 2014) anualmente, que é em grande parte causado pela infertilidade sazonal, diminuição da qualidade e produção do leite e custos veterinários elevados (Rhoads et al., 2013, Castro-montoya et al., 2022).

Embora tecnologias avançadas para redução de calor sejam utilizadas, apenas uma pequena parte das perdas econômicas relacionadas ao calor é recuperada (St-pierre et al., 2003). As alterações climáticas continuarão a acentuar as consequências já graves do estresse térmico sazonal, acreditando que até 2030 os estados do sul dos EUA, terão perdas adicionais na produção de leite de mais de 2% (Key et al., 2014).

O aumento da temperatura interna indica que os mecanismos termorreguladores não estão sendo eficientes, sendo em bovinos considerado normal a temperatura que varia entre 38° e 39,4°C, havendo variações de acordo com a idade, sexo, nível nutricional, lactação e estágio reprodutivo (Martello et al., 2004). Estudos em ratos observaram uma menor temperatura interna, para animais que foram suplementados com metionina, além de uma maior eficiência alimentar (Hasek et al., 2010).

A metionina é um aminoácido essencial que desempenha um papel importante em vias metabólicas no organismo, seu metabolismo é complexo e envolve várias etapas que ocorrem no fígado (Lorenzetti et al., 2011). Além de exercer a função na constituição de proteínas (Rees et al., 2002), a metionina é o principal doador de grupos metil para o processo de metilação do DNA, um dos mecanismos responsáveis por modular a expressão gênica (Szyf, 2011).

Entre as proteínas importantes para o organismo, as chaperonas moleculares, também conhecida como proteína de choque térmico (*Heat Shock Proteins* - HSP), ajudam a manter a integridade das proteínas celulares durante períodos de estresse. Elas atuam auxiliando na correta dobragem das proteínas e prevenindo a agregação ou a degradação anormal, além de atuar na

estabilização dessas, impedindo que se desdobrem ou se agreguem de maneira não funcional (Chen et al., 2018).

Devido a esses fatores a suplementação com metionina apresenta benefícios ao organismo, ela pode ser ofertada na forma cristalina, entretanto nesse formato a metionina livre é rápida e quase que totalmente degradada pelos microrganismos ruminais (NRC, 2001), ou na forma protegida do rúmen (RPM), onde essa degradação não ocorre e grande parte é absorvida pelo intestino delgado.

Ainda, com o rebanho comercial brasileiro de bovinos de corte sendo formado na sua grande maioria por animais de raças zebuínas e suas cruzas (Enzo e De Los Reyes, 2004) e sua conhecida adaptação ao clima tropical, há um pensamento generalizado o qual não considera muitas vezes potenciais interações negativas do calor em características produtivas de interesse econômico para os sistemas de produção. Assim, eventuais estratégias de suplementação visando não somente fornecer nutrientes que auxiliem um melhor desempenho animal, bem como possam auxiliar de alguma forma para melhores respostas produtivas e reprodutivas em clima tropical (temperaturas e umidades elevadas) são de grande interesse para pesquisadores e produtores. Com isso nosso objetivo foi avaliar os efeitos da suplementação de metionina protegida da degradação ruminal na temperatura interna e externa, no metabolismo, no ganho de peso, das vacas e dos bezerros, no desenvolvimento folicular e na taxa de prenhez de vacas de corte lactantes submetidas à estação reprodutiva com alto THI.

Capítulo 2

2.1 Revisão Bibliográfica

O estresse térmico ocorre quando os animais são expostos a temperaturas que excedem sua zona de conforto térmico, e a taxa de produção de calor é maior do que a taxa de dissipação (Aggarwal e Upadhyay, 2013). Além da temperatura, outros fatores ambientais estão associados, sendo eles: umidade relativa do ar, velocidade do vento, radiação solar e precipitação (Romero, 2013). Uma das alternativas práticas para avaliar o grau de estresse térmico ambiente é através do THI (*Temperature-Humidity Index*), conhecido no Brasil como Índice de Temperatura e Umidade, ITU, que combina o efeito simultâneo de temperatura e umidade (Ravagnolo et al. 2000).

Observamos em animais em estresse térmico uma redução na ingestão de matéria seca, crescimento, imunidade, produção de leite e principalmente na eficiência reprodutiva (Rhoads, 2023). Pois o estresse térmico reduz a expressão do comportamento estral (Hansen et al., 2001), altera o desenvolvimento folicular, o crescimento e função do folículo dominante (Wilson et al., 1998), compromete a competência do oócito (Wolfenson et al., 2000) e inibe o desenvolvimento embrionário (Drost et al., 1999).

A maioria dos efeitos do estresse térmico são identificados em gado leiteiro, devido ao volume de estudos desenvolvidos na área, mas também estão presentes no gado de corte, embora em grau reduzido devido à menor produção de calor metabólico das vacas de corte (St-Pierre et al., 2003). Estudos mostraram que em bovinos de corte em crescimento, o estresse térmico diminuiu o CMS e aumentou a digestibilidade (Lippke, 1975, Saeed, 2023), diminuiu a taxa de ganho (Mitlohner et al., 2001) parcialmente anulado pelo ganho compensatório (Mader et al., 1999) e reduziu a fertilidade de machos e fêmeas (Biggers et al., 1987). No entanto a quantificação desses efeitos é complicada devido a aclimação dos animais, que é influenciada pelas diferenças raciais e sua suscetibilidade ao estresse térmico (Hammond et al., 1998, Gaughan et al., 1999).

Além da redução no aspecto produtivo, o estresse térmico afeta o metabolismo proteico, ocorrendo mudanças na quantidade de tecido magro da carcaça em várias espécies (Geraert et al., 1996), ocasionado pela proteólise como rota energética (Baumgard et al., 2013), que ocorre como um processo

adaptativo do organismo, para compensar a redução na glicogênese e glicogenólise.

Uma forma de monitorar a adaptação dos animais ao calor é através da medição de temperatura interna, que sofre variabilidade pelo fluxo sanguíneo (Godyn et al., 2019). Entre os mecanismos de avaliações modernos as medições contínuas de temperatura têm recebido um papel de destaque, devido à qualidade de informações geradas. Essas podem ser monitoradas através da temperatura vaginal ou retal, com o auxílio de Termômetros Data Logger, capazes de armazenar em sua memória as leituras de medições de temperatura feitas automaticamente com intervalo de tempo pré-configurado no aparelho (Godyn et al., 2019).

Outro mecanismo de monitoramento são as câmeras com infravermelho, que permitem observar a distribuição de temperatura na superfície corporal, método esse que, apesar de menor precisão, não é invasivo, tornando-se útil em animais de grande porte (Godyn et al., 2013). George et al. (2014), compararam diferentes métodos de avaliação de temperatura, sendo eles Temperatura Retal (TR) e Vaginal (TV), por Termômetro Digital e Termômetro Data Logger, respectivamente, e Temperatura Ocular, através de termômetro infravermelho, e constataram que existe uma alta correlação entre TR e TV ($r=0,96$, $p<0,001$), e moderada em relação a Temperatura ocular ($r=0,52$ e $r=0,58$, $p<0,001$, vaginal e retal, respectivamente).

2.1.1. Estresse térmico e seus efeitos no metabolismo

Os bovinos são homeotérmicos, ou seja, contam com um sistema termorregulador que relaciona o sistema nervoso central (SNC) e o sistema nervoso periférico (SNP). O hipotálamo funciona como um termostato fisiológico capaz de ajustar a temperatura corporal de acordo com a necessidade, produzindo ou dissipando calor (Dukes, 2006).

A estratégia básica para manter a temperatura corporal é permitir que o calor se dissipe do corpo através de vias de troca, sendo elas: condução, convecção, radiação e evaporação (Curtis, 1983). Três dessas rotas (condução, convecção e radiação) são referidos como vias de perda de calor sensíveis e necessitam de um gradiente térmico para operar. A quarta via, por evaporação,

trabalha sob gradientes de vapor e pressão e é definida como via insensível de perda de calor (Collier et al., 2006).

Ao ser exposto ao estresse, a resposta inicial é a vasodilatação, que aumenta o fluxo sanguíneo na pele e nos membros. O sangue que perfunde os leitos vasculares cutâneos retornam para o centro através das veias superficiais, a partir das quais o calor é perdido para a pele e pelo ar (Shaerer e Beede, 1990). Em condições de frio, o fluxo sanguíneo dos membros retorna para o centro do corpo através das veias profundas que acompanham as artérias (Shaerer e Beede, 1990). O calor é transferido por troca em contracorrente, do sangue arterial aquecido para o sangue venoso, mais frio e desse modo, retorna para o centro do corpo.

Quando a vasodilatação não consegue manter uma temperatura normal, o resfriamento evaporativo é aumentado pela sudorese, pelo ofego ou por ambos (Garcia et al., 2021). O resfriamento evaporativo é o único método de perda de calor disponível quando a temperatura ambiente excede a da pele, sendo mais eficaz quando a umidade relativa é baixa (Robinson, 2004). Vacas a uma temperatura de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ perdem cerca de 10% de seu calor por evaporação; porém, à medida que a temperatura ambiente aumenta até cerca de $32\text{ }^{\circ}\text{C}$, elas perdem cerca de 80% por evaporação.

Esses mecanismos adaptativos implicam em alterações no organismo, balanço de minerais e excreção de hormônios (Nelson e Cox, 2022). Na sudorese o suor não é água pura, mas uma solução salina, rica em Na e Cl (Nelson e Cox, 2022). Vale ressaltar que as concentrações de Na e Cl são mais baixas no suor que no plasma, no entanto a sudorese prolongada pode causar depleção significativa nas reservas de Na e Cl (Nelson e Cox, 2022). Já na ofegação ocorre um aumento da frequência respiratória que causam um esforço muscular, aumentando a necessidade de energia, além de induzir a alcalose respiratória, uma elevação no pH dos fluidos corporais causado pela remoção excessiva de dióxido de carbono (Nelson e Cox, 2022).

Quando os mecanismos de termorregulação não conseguem reverter essa situação, o organismo começa a passar por um período de estresse térmico (Voet et al., 2014). Nesse caso é iniciado uma cascata de eventos, que levam ao estado de alerta, mediado pelo hipotálamo. Quem atua nesse processo é o sistema hipotálamo-hipófise-adrenal (HAA), que é responsável pela produção de

cortisol, hormônio determinante no aumento de captação de substratos energéticos para produção de ATP (Diaz Gonzales e Silva, 2017).

O cortisol favorece o aumento de ácidos graxos livres, por catabolismo lipídico, aumento de glicose no sangue por menor utilização periférica e por ativação da gliconeogênese (Diaz Gonzales e Silva, 2017). Além disso, interfere na atividade do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide, resultando na redução dos hormônios tireoidianos. Esses são responsáveis pela termogênese, aumentam a taxa metabólica, além de apresentarem ação que potencializa as catecolaminas (Bianco e Kimura, 1999). A diminuição da função tireoidiana em vacas durante longos períodos de exposição ao calor podem estar associada à necessidade de diminuir a taxa metabólica (Morais, 2008).

A secreção dos hormônios tireoidianos é regulada pela hipófise anterior, que secreta o hormônio tireoestimulante (TSH), que é controlado pelo hormônio liberador do TSH (TRH), produzido no hipotálamo (Nelson e Cox, 2022). Os glicocorticoides diminuem a síntese de TSH pela hipófise anterior e este efeito tem sido atribuído à diminuição na produção de TRH, inibindo a produção de T3 (tri-iodotironina) e T4 (tiroxina), interferindo dessa forma no metabolismo, energético, lipídico e proteico (Nelson e Cox, 2022).

2.1.2. Estresse térmico e seus efeitos no desempenho animal

O termo “conforto térmico” quando utilizado para animais considerados homeotérmicos, diz respeito à ocasião em que o animal se encontra em um ambiente de equilíbrio térmico, ou seja, não se faz necessária a mobilidade de recursos de termorregulação para que o animal se ajuste às condições ambientais (Takahashi; Biller; Takahashi, 2009). Essa condição é importante porque o animal consome baixos níveis energéticos para sua manutenção, deixando disponível grande parte da energia metabolizada para processos produtivos e quando aliada a um bom potencial genético e alimentação adequada, permitirão aos animais máxima eficiência produtiva (Klosowski et al., 2002).

Bovinos em estresse térmico têm suas atividades comprometidas, o que ocasiona alterações sobre o consumo de alimentos e água, crescimento, desenvolvimento, produção de leite, reprodução e comportamento (Mader et al. 2010). A incidência de problemas relacionados à saúde de úbere aumenta em

consequência da elevação do cortisol, que é imunossupressor, o que reduz a capacidade de defesa da glândula mamária, deixando-a susceptível a infecções causadas por bactérias presentes no ambiente (Pereira, 1996). Em resposta, ocorre um recrutamento de neutrófilos para a região na tentativa de combater a infecção, liberando para o leite secretado esses neutrófilos e enzimas proteolíticas e lipolíticas, alterando a composição do leite (Kehrli et al., 2000). A redução na produção de leite, depende de fatores relacionados ao manejo, no entanto, são frequentemente observadas perdas produtivas de 10%, além da redução nos teores de gordura, proteína, lactose, cálcio e potássio.

Os efeitos negativos no desempenho estão associados principalmente à redução na ingestão de alimentos, à hipofunção da tireoide e pelo gasto de energia despendida para eliminar o excesso de calor corporal (Pinarelli, 2003; Porcionatto, 2009).

Outra alteração que ocorre em condições de estresse térmico é a alcalose respiratória: à medida que as vacas são afetadas por altas temperaturas, a frequência respiratória aumenta e o CO₂ (gás carbônico) é eliminado dos pulmões mais rapidamente do que é produzido (Nelson e Cox, 2022). Isto leva a queda no CO₂ sanguíneo. Para tentar manter a relação CO₂/bicarbonato (HCO₃) constante no sangue, o rim aumenta a excreção de HCO₃ (Nelson e Cox, 2022). Com mais CO₂ saindo dos pulmões e mais bicarbonato excretado pela urina, a concentração sérica de bicarbonato é reduzida, tornando o pH do sangue mais alcalino, sendo denominado de alcalose respiratória (Nelson e Cox, 2022). Essa alteração é responsável por causar distúrbios neurológicos, alterações cardiovasculares, desidratação e desequilíbrio eletrolítico. Além de comprometer o sistema imunológico, tornando-os mais suscetíveis a outras doenças infecciosas.

2.1.3. Estresse térmico e seus efeitos na reprodução

O estresse calórico aumenta a atividade do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HHA), como mencionamos anteriormente, o que diminui a função reprodutiva, mostrando haver uma possível relação com os hormônios do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (HHG) (Sayeg, 2020). A produção do cortisol influencia a função sexual em três níveis do eixo HHG: a nível de hipotálamo, por meio do CRH (hormônio liberador de corticotrofina), onde este inibe a

secreção de GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas) e, conseqüentemente, na hipófise anterior, diminuído a liberação de LH (hormônio luteinizante) e de FSH (hormônio folículo estimulante), alterando nas gônadas o efeito estimulatório das gonadotrofinas (Rocha et al., 2012; Catunda et al., 2014).

Com a diminuição da liberação das gonadotrofinas (LH e FSH), a produção de estrógenos também será afetada, o que irá acarretar em diversos transtornos reprodutivos como: falhas na detecção do estro ocasionadas pela presença de estro silencioso, falhas no desenvolvimento e na qualidade do oócito, na fertilização e na implantação (De Rensis et al., 2015) do embrião devido à não preparação do útero e à formação de um corpo lúteo de má qualidade, podendo ainda levar a fêmea a uma condição de anestro (Rocha et al., 2012).

Essa diminuição na fertilidade tem sido associada à baixa competência do oócito, pois esse é intimamente relacionado com o ambiente em que se encontra (Webb et al., 2004). O diâmetro do folículo dominante menor, associado a alterações bioquímicas ocorridas na glicose, no IGF-1, nos ácidos graxos não esterificados, no colesterol total e na ureia do microambiente folicular, pode comprometer a capacidade de desenvolvimento do oócito e a qualidade das células da granulosa (Webb et al., 2004). No interior do folículo encontram-se fatores de crescimento e gonadotrofinas que são essenciais aos estágios de crescimento e ovulação (Webb et al., 2004). Chega-se, assim, à maturação oocitária por meio da interação do oócito com as células da granulosa e da teca (Miyano, 2003; Cecconi et al., 2004), a qual fornece, ainda, condições para que o oócito possa ser ativado, dando continuidade ao seu crescimento e conferindo-lhe qualidades que são indispensáveis para o sucesso do desenvolvimento embrionário (Schultz, 2002).

O estresse é um potente ativador da liberação do CRH pelo hipotálamo (Chatterjee e Chatterjee, 2009). Uma conexão neural direta entre CRH e GnRH tem sido documentada (Rivest e Rivier, 1995). CRH é o principal regulador do eixo HHA e do peptídeo β -endorfina que reduz a atividade do hipotálamo em gerar pulsos de GnRH e, concomitantemente, inibe a secreção de GnRH (Chen et al., 1992). A resultante diminuição na liberação pulsátil de LH (Li et al., 2006) posteriormente leva à anovulação, à interrupção da decidualização endometrial e à perda da gestação (Chatterjee et al., 1994). Receptores de CRH são

identificados na maioria dos tecidos reprodutivos femininos, incluindo os ovários, o útero e o trofoblasto placentário (Chrousos, 1995). Receptores de CRH na teca ovariana e nas células da granulosa (Mastorakos et al., 1994) são encontrados e reduzem a esteroidogênese ovariana de maneira dose-dependente (Ghizzoni et al., 1997), sugerindo que o CRH no ovário pode levar à falência ovariana e na placenta pode induzir ao parto prematuro (Webster et al., 1996).

Uma das respostas fisiológicas para o aumento da temperatura corporal é a redistribuição de sangue para a pele (Maia et al., 2005). Aumentam-se também os ciclos respiratórios como resposta ao estresse térmico, o que pode resultar em redistribuição do fluxo de sangue para os músculos envolvidos na atividade respiratória (Maia et al., 2005). O maior fluxo sanguíneo para a periferia associado com a termorregulação, simultaneamente, reduz o fluxo sanguíneo para os órgãos internos, incluindo o trato reprodutivo (Rocha, 2012). Por exemplo, o fluxo de sangue para o ovário, o colo uterino e a tuba uterina diminuíram de 20-30% durante o estresse térmico, enquanto aumentou o fluxo sanguíneo vulvar em 40% (Rocha, 2012). Ocorre um menor aporte de sangue para o útero, com morte embrionária precoce (<42 dias), mais prostaglandina com luteólise prematura.

O estresse térmico também pode atingir a reprodução de forma indireta, alterando o balanço energético, devido à redução da IMS, o que reduz as concentrações plasmáticas de insulina, glicose e IGF-I, além de aumentar o hormônio do crescimento (GH) e ácidos graxos livres ou não-esterificados (AGNE) (Oliveira, 2002).

2.1.4 Metabolismo proteico

As proteínas são moléculas abundantes e apresentam papel importante para o funcionamento celular, participam da síntese de enzimas, sais biliares, substâncias neurotransmissoras, síntese de hormônios e vitaminas, auxiliando na resposta imune, contração muscular, transporte de diversas substâncias e no crescimento (Vieira, 2003).

São moléculas de alto peso molecular que são compostas por nitrogênio, oxigênio e carbono, que se formam a partir de combinações de aminoácidos com ligações polipeptídicas (Matias, 2022). Nos períodos de crescimento ocorre o

aumento nas taxas de síntese de proteínas, bem como degradação e reutilização dos aminoácidos, visando à formação de novos tecidos (Silva, 2023).

No entanto a reutilização não é completa, pois ocorre a perda de aminoácidos pelo catabolismo oxidativo, fezes, urina, suor, saliva e pele, sendo por isso necessário a ingestão diária de aminoácidos essenciais e não essenciais (Matias, 2022). Esse processo de reutilização de aminoácidos é conhecido como *turnover* proteico, acredita-se que aproximadamente 3% a 4% da proteína total do organismo passa por um processo contínuo de remodelação, envolvendo síntese e degradação, o que é essencial para a manutenção da homeostase e adaptação às necessidades fisiológicas do corpo (Abreu et al., 2021)

A velocidade do *turnover* proteico não é uniforme e varia entre os órgãos, por exemplo a mucosa intestinal e a medula óssea apresentam uma taxa mais rápida, enquanto o tecido muscular e conjuntivo tem uma velocidade mais lenta nesse processo, e essa variação ocorre devido as demandas metabólicas específicas de cada tecido e órgão no corpo (Teixeira et al., 2010). Além disso, a taxa de *turnover* proteico varia ao longo da vida, sendo mais elevada na infância, período de maior demanda para o crescimento e desenvolvimento do organismo (Guedes, 2009).

Em termos de consumo energético, o *turnover* proteico demanda aproximadamente de 10% a 25% do gasto energético basal, porcentagem superior ao necessário para o metabolismo lipídico e glicídico, indicando que a manutenção e renovação das proteínas no corpo demandam uma parcela significativa da energia total consumida (Pardo et al., 2019).

As proteínas são compostas por aminoácidos, como mencionado anteriormente, e esses, têm vias metabólicas diferentes e são classificados em essenciais e não essenciais (Vieira, 2003). Os essenciais não são sintetizados pelo organismo, dessa forma precisam ser fornecidos na dieta, e são eles, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina (Guimarães, 2015). Os não-essenciais são produzidos pelo organismo a partir de precursores, como carbono e nitrogênio, que são metabolitos do metabolismo intermediário e de grupamentos amino provenientes do excesso de aminoácidos, e resultam em gasto de energia, são eles a alanina, a serina, a asparagina e os ácidos aspártico e glutâmico (Martins e Assunção, 2018).

Também existe os considerados aminoácidos condicionalmente essenciais, que são aqueles produzidos pelo organismo, mas que apresentam uma limitada capacidade de síntese os tornando insuficientes em determinadas situações, alguns exemplos são, a arginina, glicina, glutamina, tirosina, prolina, histidina, cisteína e taurina (Reis et al., 2020). Abaixo mostramos uma tabela com os aminoácidos condicionalmente essenciais e seus precursores.

Tabela 1. Aminoácidos condicionalmente essenciais e seus precursores metabólicos

Item	Precursor metabólico
Alanina	Piruvato
Arginina	Citrulina, glutamina
Asparagina	Ácido aspártico
Ácido glutâmico	α -cetoglutarato
Cisteína	Metionina, serina
Glutamina	Ácido glutâmico
Glicina	Serina, colina
Prolina	Glutamato
Serina	Glicerol, glicina
Tirosina	Fenilalanina

Adaptado de McNurlan e Garlick (1995)

2.1.5. Metabolismo proteico no estresse

No estresse as respostas metabólicas visíveis são aumento da lipólise e proteólise, perda de massa muscular, supressão imunológica, tornando o indivíduo mais susceptível a enfermidades. Inicialmente ocorre um aumento na liberação de aminoácidos, alanina e glutamina, pelos tecidos periféricos, músculo esquelético, para gliconeogênese e síntese de proteínas necessárias à defesa imunológica, conhecidas como as proteínas de fase aguda (PFA) (Rennie, 1998).

Essas proteínas são sintetizadas no fígado e modulam a resposta inflamatória; as positivas rapidamente se elevam no plasma enquanto as negativas diminuem (Santos et al., 2014). As PFA atuam no organismo modulando a resposta inflamatória, interagindo com células imunes, inibindo o crescimento de patógenos, auxiliam no transporte de lipídios e hormônios, além de auxiliar no reparo e regeneração tecidual, facilitando a cicatrização de feridas e a recuperação de tecidos danificados (Rodrigues, 2012).

No estresse o fígado fica responsável por a produção das proteínas de fase aguda, diminui a síntese de albumina, aumenta a síntese de ureia e a captação de aminoácidos, onde essa ureia produzida se direcionada aos rins, resultando no aumento da perda de nitrogênio pela urina e alterando o balanço nitrogenado do organismo (Conney et al., 1997). A eliminação urinária dos produtos de degradação da musculatura esquelética reflete a intensidade do hipercatabolismo (Biolo et al., 1997). Por isso a oferta de aminoácidos em fases de estresse pode ser benéfica, pois melhora o aporte de nitrogênio no organismo.

Estudos realizados em humanos relatam que existe uma diferença no metabolismo dos aminoácidos ao longo da vida, sendo que no período neonatal é a fase que apresentam maior necessidade (43%) e declinam progressivamente até a fase adulta (19%) (Imura e Okada, 1998). E isso ocorre devido à diminuição da atividade da enzima cistationase, responsável pela formação de cisteína a partir de metionina, também ocorre a diminuição da enzima fenilalanina hidroxilase, o que pode determinar a deficiência de tirosina e o acúmulo de fenilalanina (Kalhan e Iber, 2000). Já taurina, cujo precursor metabólico na via de transulfuração é a cisteína, como consequência também tem sua síntese reduzida, tornando-se, portanto, um aminoácido condicionalmente essencial para os recém-nascidos (Imura e Okada, 1998).

A necessidade proteica é influenciada pela oferta energética total e, quando essa for inadequada, ocorrerá o catabolismo proteico para o fornecimento de energia ao organismo a partir de aminoácidos, fazendo com que o organismo fique com déficit proteico. Podendo ocasionar problemas na estruturação das células, no transporte de substâncias, regulação hormonal e defesa imunológica.

2.1.6. Função dos aminoácidos no organismo

A compreensão das funções específicas dos aminoácidos é importante para formular dietas equilibradas para ruminantes, garantindo que suas necessidades nutricionais sejam atendidas em diferentes fases da vida e em diferentes condições fisiológicas (Brumano, 2008). Com isso, vale ressaltar algumas das principais funções dos aminoácidos no organismo.

A arginina atua na síntese proteica, especialmente no tecido conjuntivo, e sua síntese depende da disponibilidade de citrulina e ornitina, sua suplementação está associada à melhora da cicatrização (Pereira, 2006). Já a glicina está envolvida na síntese de nucleotídeos, sais biliares e creatina, tendo uma maior demanda em fases de crescimento, principalmente na fase neonatal por ter sua síntese imatura nesse período (Schutz, 2011).

A glutamina é importante em casos de lesões graves de mucosa intestinal, por auxiliar na rápida multiplicação celular, principalmente de enterócitos e linfócitos (Satyanarayana, 2014). A lisina é fundamental para o crescimento, desenvolvimento e reparo de tecidos, além de atuar na produção de enzimas e hormônios importantes para o metabolismo (Balbino et al., 2005). O Triptofano é precursor da serotonina, um importante neurotransmissor, além de contribuir para o controle do apetite (Junior et al., 2021).

A histidina é precursora de compostos biologicamente ativos, é crucial para a formação de histamina, um composto que desempenha papéis importantes no sistema imunológico, na resposta inflamatória e na regulação da acidez no estômago (Freitas, 2012). A leucina, isoleucina e valina são aminoácidos de cadeia ramificada e atuam na síntese de proteínas musculares, desempenhando um papel importante no crescimento e reparo muscular, podendo ser oxidados para gerar energia durante períodos de exercício intenso, além de, desempenharem papel na regulação do sistema imunológico (Lorenzetti et al., 2011).

A arginina atua na síntese de ureia, contribuindo para a excreção eficiente de amônia, um subproduto do metabolismo proteico, além de estar envolvida na regulação do sistema imunológico e na produção de óxido nítrico, que tem efeitos vasodilatadores (González e Silva, 2019). A fenilalanina e a tirosina são precursoras de neurotransmissores importantes, como a dopamina, norepinefrina e epinefrina, e estão envolvidas na síntese de melanina, pigmento responsável pela coloração da pele, pelos e olhos (Martins e Assunção, 2018).

A cisteína é um importante componente na formação da glutathiona, um antioxidante essencial para a proteção celular contra danos oxidativos, além de ser crucial na formação de queratina, uma proteína estrutural em pelos, penas e cascos (Guimarães, 2015). A metionina é essencial na síntese de proteínas e participa na formação de enzimas importantes, como a metionina sulfoxido

redutase, que protege as células contra danos oxidativos, além de ser precursora da cisteína (Barreiros et al., 2006).

A Metionina Sulfoxido Redutase, citada anteriormente, é uma enzima que protege as células dos danos oxidativos causados pela metionina sulfóxido, produto gerado da oxidação da metionina (Favier et al., 2003). A enzima age catalisando a redução do grupo sulfoxido (SO) presente na metionina sulfoxido, convertendo-o de volta para a forma original da metionina, que pode ser reincorporada às proteínas celulares (Barreiros et al., 2006). Isso é importante porque a metionina é um aminoácido essencial que desempenha papéis críticos na síntese proteica e em outras vias metabólicas.

O processo de redução catalisado pela Metionina Sulfoxido Redutase é uma estratégia celular para lidar com o estresse oxidativo que ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio e a capacidade antioxidante da célula (Almeida et al., 2005). Essas espécies reativas podem danificar proteínas, lipídios e DNA, contribuindo para o envelhecimento celular.

Assim, a Metionina Sulfoxido Redutase desempenha um papel significativo na manutenção da integridade das proteínas celulares, contribuindo para a homeostase redox e protegendo a célula contra os efeitos nocivos do estresse oxidativo (Pauwels et al., 2007). Esta enzima é particularmente importante em organismos que dependem da metionina, como os ruminantes, onde a metionina é um aminoácido essencial na dieta e desempenha papéis críticos em muitas vias metabólicas.

2.1.7. Digestão e absorção de proteínas e aminoácidos

São as bactérias os principais microrganismos envolvidos na degradação proteica, e são eles também os mais abundantes no ambiente ruminal, Broderick et al (1991) relata que mais de 40% das espécies isoladas, apresentam atividade proteolítica (Rigon et al., 2022, Aquino et al., 2023).

A porção de proteína bruta dos alimentos é composta por uma fração degradável no rúmen (PDR) e uma não degradável no rúmen (PNDR), onde a degradação da primeira fração ocorre pela ação de enzimas que são as proteases, peptidases e deaminases secretadas pelos microrganismos ruminais (Salazar et al., 2008). Inicialmente as bactérias se ligam às proteínas em um

processo de adsorção, que sofrem uma hidrólise pelas enzimas proteases, levando a liberação de oligopeptídeos, que serão degradados por oligopeptidases os quais são quebrados em pequenos peptídeos e aminoácidos livres, que são então incorporados à proteína microbiana (Aquino et al., 2023).

A eficiência das proteases microbianas, está diretamente ligada à estrutura e solubilidade das proteínas, e é regulada pela taxa de passagem, pois a renovação do conteúdo ruminal propicia uma população microbiana mais jovem que apresenta menor exigência de manutenção e direciona os nutrientes em grande parte para o seu crescimento (Pelissari, 2020).

Outro microrganismo responsável pela degradação das proteínas são os protozoários, que, apesar de menos numerosos, diferem das bactérias em seu mecanismo de ação (Berchielli et al., 2011). Eles ao invés de formarem um complexo com a proteína, eles ingerem bactérias, fungos e partículas de alimentos que são digeridos no interior da célula, liberando peptídeos que são degradados a aminoácidos livres que são incorporados a proteínas dos protozoários (Berchielli et al., 2011). Apesar de secretarem peptídeos, aminoácidos e amônia no fluido ruminal, a parte mais significativa desses compostos é disponibilizada com a autólise celular ou morte dos microrganismos (Clarindo, et al., 2008).

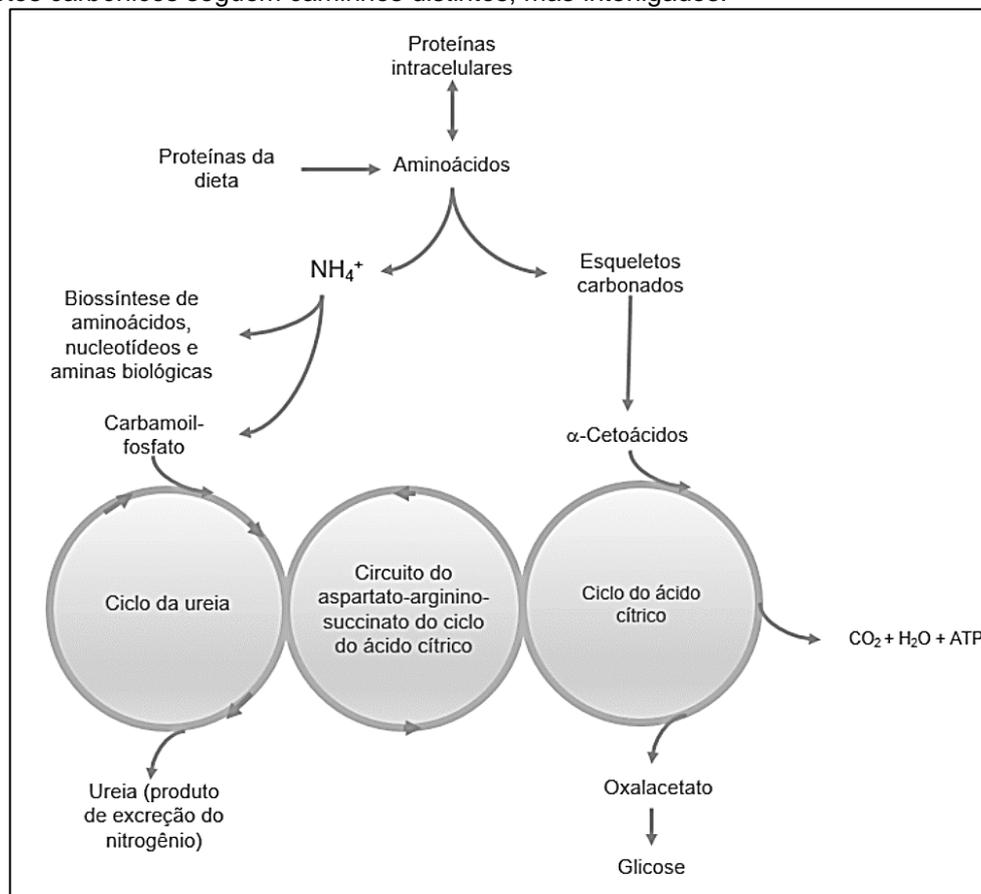
Como vistos, a fração degradável, dará origem a peptídeos, aminoácidos e amônia e são utilizadas para a formação de proteína microbiana, que é a principal fonte de proteína metabolizável para ruminantes (Guimarães, 2015). A produção de amônia é originária da fração de Nitrogênio Não-Proteico (NPP) do alimento, que sofre a ação da enzima urease, secretada por bactérias presentes na parede ruminal, que fazem a conversão de ureia em amônia (Berchielli et al., 2011), processo este dependente da disponibilidade de energia no rúmen. O excedente é absorvido e através da parede ruminal na forma não ionizada (NH_3). Nesse aspecto a regulação do pH ruminal exerce uma importante ação, pois a redução do pH favorece a ionização da amônia, tornando a indisponível para absorção (NH_4^+ , amônio) (Berchielli et al., 2011).

A amônia é tóxica para os ruminantes quando em altas concentrações, por isso é convertida no fígado dentro das mitocôndrias e no citosol dos hepatócitos, em ureia novamente (ciclo da ureia), onde nesse processo 2 moléculas de NH_3 são convertidas em 1 molécula de ureia (Kozloski, 2017). A

primeira molécula de amônia é carboxilada pela enzima carbamoil fosfato sintetase, originando o composto carbamoil fosfato, utilizando dois ATPs, o substrato gerado reage com a ornitina formando a citrulina, um precursor para a formação de arginina, aminoácido citado anteriormente (Berchielli et al., 2011).

A segunda molécula de amônia que entra no ciclo é originada do aspartato que reage com a citrulina, gerada pela utilização da primeira molécula, formando o arginino-succinato, que é clivado a arginina e fumarato. A arginina é quebrada usando a enzima arginase, regenerando a ornitina e produzindo uma molécula de ureia (Berchielli et al., 2011). Essa molécula produzida é excretada via urina, ou retorna para o rúmen através do processo de reciclagem de nitrogênio (N), que permite que esse N seja reutilizado pelos microrganismos como NNP (Figura 1).

Figura 1. Visão geral do catabolismo de amino ácidos em mamíferos. Os grupos amino e os esqueletos carbônicos seguem caminhos distintos, mas interligados.



Fonte: (Nelson e Cox, 2002)

A proteína metabolizável é representada pelo total de AA derivado da digestão intestinal, que são provenientes da proteína microbiana e da PNDR da proteína endógena. Estudos mostram que a exigência dos ruminantes não é por PB, NNP, PDR ou PNDR, mas sim por AA, e esses devem estar disponíveis para o metabolismo dos tecidos em quantidade e proporções adequadas (Guimarães, 2015). Sendo assim, o valor nutricional da proteína metabolizável depende, principalmente, do perfil de aminoácidos essenciais.

Ainda a nível ruminal, os microrganismos precisam de energia para se multiplicar, e então fazer o seu papel de fermentação. Para isso, a principal fonte de energia utilizada são os carboidratos (CHO), todavia alguns conseguem usar proteínas como fonte energética, porém nenhuma espécie consegue utilizar gordura (Kozloski, 2017). Em relação aos CHO eles podem ser fibrosos (CF) ou não fibrosos (CNF), sendo a hemicelulose, açúcares, amido e pectina os mais utilizados pelos microrganismos (Alves et al., 2016). Cada uma dessas fontes de CHO apresenta taxas de fermentação distintas e dependendo da velocidade de fermentação e da fonte alimentar utilizada, haverá, além de alteração da flora microbiana, variação no pH ruminal principalmente pela maior ou menor necessidade de produção de saliva e tamponamento com bicarbonato. Sendo assim, o tipo de CHO utilizado na dieta pode influenciar diretamente na digestão proteica ruminal (Kozloski, 2017).

O que gostaríamos de salientar é que as fontes de CHO apresentam taxas de fermentação diferentes e isso modifica o ambiente ruminal, interferindo principalmente em pH, que modula a absorção e fermentação dos substratos.

A proteína bruta e a PDR são substratos que interferem no crescimento da flora ruminal, uma vez que as principais fontes de nitrogênio são a amônia, aminoácidos e peptídeos (Costa et al., 2015). As bactérias fermentadoras de CF usam amônia como fonte de N, enquanto as fermentadoras de CNF preferem aminoácidos e peptídeos (De Oliveira et al., 2006). Estudos *in vitro* mostraram que a adição de aminoácidos e peptídeos aumenta a eficiência e a produção de proteína microbiana quando comparado a um meio que contém somente amônia (Berchielli et al., 2011).

Já os microrganismos que consomem somente amônia usam esqueletos carbônicos (ácidos graxos de cadeia ramificada) e energia para sintetizar seus aminoácidos (Nelson e Cox, 2022). Alguns exemplos são no caso dos ácidos n-

valerico, que se origina da desaminação da prolina, arginina e lisina, e os isovalerico, isobutirico e 2-metil-butirico, que se originam dos AA de cadeia ramificada, valina, isoleucina e leucina (Berchielli et al., 2011). Isso nos mostra que a suplementação de aminoácidos influencia, diretamente e indiretamente no metabolismo.

No intestino chega o que chamamos de proteína metabolizável, e a partir do abomaso a digestão é semelhante à de não ruminantes. Após a saída do bolo alimentar da cavidade fermentativa começa a digestão com a ação da pepsina no abomaso (Nelson e Cox, 2022). No entanto a absorção em grande parte ocorre no jejuno médio, com a ação das enzimas pancreáticas, tripsina, quimiotripsina e carboxipeptidase e no íleo médio com o pico de atividade das aminopeptidases e dipeptidases (Berchielli et al., 2011).

As enzimas têm funções distintas e em conjunto fazem a digestão dos compostos nitrogenados, por exemplo a pepsina atua sobre moléculas de proteínas produzindo peptídeos no geral, a tripsina e quimiotripsina agem sobre proteínas e peptídeos e produzem polipeptídeos e dipeptídeos (Tirapegui e Rogero, 2007). As carboxipeptidases agem sobre polipeptídeos e produzem pequenos peptídeos e AA livres, enquanto as dipeptidases transformam dipeptídeos em AA livres (Berchielli et al., 2011).

A mucosa do intestino delgado tem sítios de absorção de peptídeos, AA e nucleotídeos, inicialmente acreditava-se que apenas a absorção dos AA era importante, e que os peptídeos absorvidos eram metabolizados na mucosa intestinal e transportados pela veia porta apenas na forma de AA livres (Nelson e Cox, 2022). Entretanto, evidências mostram que pequenos peptídeos, assim como, os AA são absorvidos principalmente no jejuno e íleo médio e transportados para o fígado.

Os aminoácidos absorvidos e metabolizados estão disponíveis para os tecidos, e são usados principalmente para a síntese proteica. Uma porção considerável é usada pelo fígado para a síntese de glicose, através da gliconeogênese (Berchielli et al., 2011), além de serem convertidos em lipídios, purinas, pirimidinas, hormônios e neurotransmissores. Os AA não usados nesse processo são desaminados, originando amônia e esqueletos carbônicos que podem ser usados como substrato do ciclo do ácido tricarboxílico para produção de ATP (Nelson e Cox, 2022).

O metabolismo dos aminoácidos é regulado pela ação de hormônios como a insulina, GH e IGF-1 que atuam coordenando a síntese e degradação dos AA, em situações de aumento de glicose no sangue, a insulina estimula a captação de aminoácidos pelas células musculares, além de promover a síntese de proteína e inibir a degradação, favorecendo a incorporação de aminoácidos em cadeias polipeptídicas (Mizubuti et al., 2018). O Hormônio do crescimento (GH) e o Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1 (IGF-1) estimulam o crescimento celular, mobilizando aminoácidos dos tecidos periféricos para o uso em processos metabólicos e sínteses proteica (Almeida et al., 2021).

2.1.8. HSPs e seus efeitos para o organismo

Por definição, a desnaturação proteica é uma consequência direta ou indireta constante de qualquer estresse, uma vez que os estresses são definidos como fatores que impedem as funções celulares normais realizadas pelas proteínas. Potencialmente, qualquer estressor que induza o enrolamento incorreto de proteínas exigiria o recrutamento de HSP/acompanhantes. A este respeito, os acompanhantes são agora considerados poderosos amortecedores contra o estresse ambiental e até mesmo contra variações genéticas (Carey et al., 2006).

O mau enrolamento das proteínas é a principal característica do estresse térmico, portanto as HSPs foram as primeiras acompanhantes a serem estudadas. No entanto, desde a descoberta das HSPs/acompanhantes, descobriu-se que o papel dessas, não se limita à gestão do estresse térmico, mas também está envolvido em outros estresses, tais como frio, osmótico, seca, sal, raios ultravioletas (UV), luz alta, estresse oxidativo e infecção por patógenos (Swindell et al., 2007).

A principal função das HSPs é atuar como um cartão de memória celular, onde mantem as informações das células para limitar o dobramento incorreto e resolver agregados. Ao fazer isso, minimizam o impacto das variações ambientais e genéticas no proteoma. Além de auxiliarem no processo de sinalização, direcionamento e degradação das proteínas.

2.1.9 Suplementação com metionina

A metionina é um aminoácido essencial para diversas funções fisiológicas em ruminantes, no entanto todos os AA podem ser limitantes, dependendo da composição da dieta e da contribuição da proteína microbiana para o total da proteína que chega ao duodeno, e isso ocorre devido ao processamento das matérias-primas que passam por algum tipo de tratamento térmico, que acaba interferindo na absorção dos AA (Hristov et al., 2014).

Outro fator relevante é a degradação ruminal que pode limitar a eficiência de absorção de metionina, pois esses produtos são rapidamente desaminados no rúmen pelos microrganismos. Visando amenizar esse problema, existem tecnologias de proteção utilizadas pela indústria para proteger o AA, como os polímeros sensíveis ao pH, matrizes de lipídios, revestimento com etil-celulose e análogos de metionina de baixa degradação ruminal (Chen et al., 2011). A proteção com polímeros sensíveis ao pH ácido resulta num produto com elevados coeficientes de proteção ruminal, sendo independente da função enzimática e depende das diferenças de pH entre o rúmen e o abomaso. Esta tecnologia é considerada a mais efetiva, pois o produto resultante apresenta uma biodisponibilidade elevada e relativamente constante (entre 70 e 80%) (Vrisman, 2013). Contudo, em situações de queda no pH essa tecnologia pode ter a sua utilidade limitada reduzindo sua eficácia.

A tecnologia de proteção com matriz lipídica depende das enzimas intestinais para ser destruída, o que permite um grau razoável de proteção à degradação no rúmen (NRC, 2001). Já a proteção com revestimento de etil-celulose minimiza a digestão enzimática e a libertação dos AA depende da ação física, o que diminui sua eficiência, uma vez que, dependendo do manejo o excesso de mistura no alimento complementar, pode causar a degradação do revestimento de proteção (Malacco et al., 2022).

O hidroxianálogo de metionina DL-2-Hidroxi-4-ácido metiltiobutanóico (HMB) é uma alternativa à proteção por encapsulamento, pois além de fornecer metionina metabolizável, por apresentar uma molécula mais resistente à degradação, parece estimular o metabolismo microbiano no rúmen (Chen et al., 2011).

O produto *Smartamine® M* (ADISSEO®) é um dos disponíveis no mercado e contém, no mínimo, 70% de DL-metionina revestida com um polímero

sensível ao pH. Segundo o fabricante, a sua proteção *in vitro* é de no mínimo 90%, e apresenta uma quantidade de metionina metabolizável de 567g (met/Kg de produto). Chen et al. (2011) compararam a resposta produtiva de vacas leiteiras que ingeriram dietas suplementadas com Smartamine® M e verificaram efeitos positivos no metabolismo. Por isso a utilização de metionina protegida da degradação ruminal emerge como uma estratégia para otimizar a disponibilidade desse aminoácido para o organismo.

2.1.10 Biotransformação da metionina

A biotransformação da metionina fornece grupos metil para as células, é uma regulação fina de processos celulares, influenciando na expressão gênica e na função de proteínas, interferindo em aspectos da fisiologia celular e metabólica. Ocorre de forma complexa, como exemplificada na (Selhub, 1999) (Figura 2).

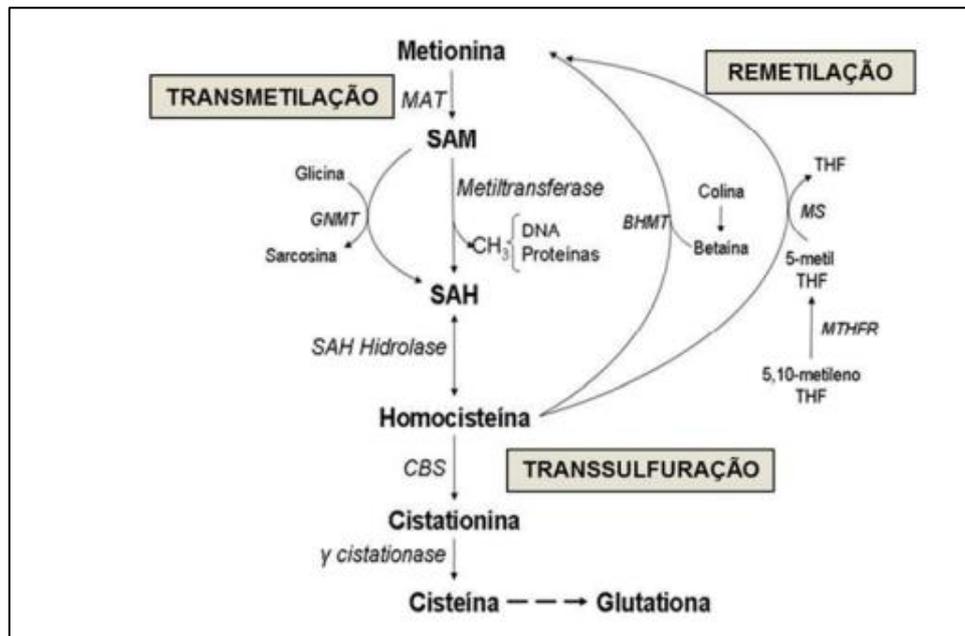
Ocorre principalmente no fígado e, apesar de acontecer em todas as células dos mamíferos, inicia com a ação da enzima metionina adenosiltransferase (MAT) que faz a conversão da metionina em S-adenosilmetionina (SAM) (Brosnan et al., 2004). Após essa transferência do grupo metil, SAM é convertida a S-adenosilhomocisteína (SAH) e, posteriormente, hidrolizada a homocisteína (Amaral, 2010). Durante a transmetilação, a SAM doa seu grupo metil para moléculas-alvo, como DNA, proteínas e neurotransmissores (Amaral, 2010).

A homocisteína é convertida a cistationina pela cistationina- β -sintase (CBS) enzima envolvida na via de transsulfuração, que dá origem a cisteína, precursora da glutatona (Tesseraund et al., 2009). Essa molécula tripeptídica composta de aminoácidos desempenha um papel importante no organismo, tem efeito antioxidante, protegendo as células dos radicais livres, auxilia na regulação do ciclo celular, interferindo na proliferação e apoptose, também auxilia na neutralização de compostos químicos facilitando sua eliminação pelos rins e fígado, e atua principalmente na proteção das mitocôndrias, estruturas responsáveis pela produção de energia (Lehninger, 2018).

A homocisteína que não é usada na transsulfuração é direcionada para outra via importante, a da remetilação, na qual a metionina pode ser novamente sintetizada a partir da homocisteína, pela ação da

betaínahomocisteínametiltransferase (BHMT) ou pela enzima metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR) (Brosnan et. al, 2004). Enzimas-chave envolvidas na remetilação incluem a metionina sintase, que utiliza vitamina B12 como cofator, e a metilenotetrahidrofolato redutase, que requer como precursor a vitamina B9 (ácido fólico) (Selhub, 1999).

Figura 2. Processo de biotransformação da metionina



Fonte: Adaptado de (Lehninger, 2018)

No fígado a concentração de SAM controla o fluxo de biotransformação, direcionando a homocisteína para uma das duas vias disponíveis, transsulfuração ou remetilação, visando restabelecer a homeostase. Altas concentrações de SAM podem inibir a enzima MTHFR e ativar CBS, direcionando a homocisteína para a via de transsulfuração (Tesseraund et al., 2009). Em baixos níveis não há a inibição sobre BHMT (responsável por processar aproximadamente 25% do conteúdo de homocisteína em hepatócitos) e MTHFR, com isso há o direcionamento do fluxo para via de remetilação, objetivando restabelecer os níveis normais do conteúdo de metionina (Selhub, 1999).

Em camundongos onde as concentrações de SAM e GSH hepáticos são reduzidos, o fígado torna-se maior e mais suscetível a danos, além de diminuir os níveis de metilação, alterando a conformação do DNA e a estrutura da cromatina, uma molécula complexa composta por DNA, proteínas e, em alguns casos, moléculas de RNA (Brosnan et al., 2004). A cromatina é encontrada no núcleo das células e desempenha um papel na organização, regulação e compactação do material genético (Lehninger, 2018).

A metionina desempenha um papel importante na regulação do estresse térmico, é precursor direto da síntese de glutatona, um importante antioxidante que neutraliza as espécies reativas de oxigênio, produzidas durante o estresse térmico. Além de regular o metabolismo de aminoácidos, preservando a massa muscular e a função celular.

Capítulo 3

Materiais e Métodos

O experimento ocorreu na estação experimental Hildegard Georgina Von Pritzelwitz da Fazenda Figueira, localizada no município de Londrina, Paraná, Brasil (23° 34' 26" S, 50° 58' 14" O). A propriedade conta com aproximadamente 1200 vacas de cria, sendo animais da raça Nelore (*Bos indicus*), manejados em sistema extensivo, predominantemente em campo com pastagem de gramíneas tropicais (*Brachiaria brizantha* cv. *Marandu*), em uma área de 3.686 hectares. A fazenda trabalha, principalmente, com ciclo completo, sendo as etapas de cria e recria realizadas a pasto e a terminação em confinamento.

O estudo ocorreu entre os meses de novembro de 2020 e março de 2021. Foram utilizadas 900 fêmeas, primíparas e múltíparas, lactantes e com cria ao pé, com 25±19 dias pós-parto (DPP) distribuídas uniformemente em dois grupos. O Grupo Controle (GC; n= 450) era caracterizado por vacas Nelore mantidas em pastagem de gramíneas tropicais e com acesso a suplementação mineral comercial *ad libitum*, o Grupo Metionina (GM; n= 450) era composto por vacas Nelore e mantidas sob as mesmas condições do GC, com adição de metionina protegida da degradação ruminal (Smartamine® M, Adisseo, Antony, França), na proporção de 3g para cada 100g do suplemento mineral.

A suplementação para os grupos teve início 19 dias antes do protocolo de IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) e término no diagnóstico de gestação, 31±2 dias pós-IATF, totalizando 60±2 dias de suplementação, o fornecimento e controle de consumo de suplemento foi realizado duas vezes na semana, sendo que diariamente era feita a revisão dos cochos para garantir a qualidade do produto ofertado e se necessária, realizada a troca do suplemento. A suplementação foi fornecida em cochos cobertos, colocados em locais estratégicos nas unidades experimentais.

Cronograma

D-28 – Início da suplementação

D -9 – Início do protocolo de IATF

D 28 - Diagnóstico de gestação 31±2 dias pós IATF

Os animais foram distribuídos em cinco repetições, de acordo com o período de parição das vacas. Sendo apresentado na tabela e figura abaixo:

Tabela 2. Distribuição dos animais em relação ao início da suplementação de acordo com os meses de verão

Grupo	Blocos	Nº de animais	Meses
Controle Metionina	A	86 86	Dezembro
Controle Metionina	B	110 110	Dezembro
Controle Metionina	C	74 73	Fevereiro
Controle Metionina	D	71 74	Fevereiro
Controle Metionina	E	109 107	Março

As avaliações de forragem foram realizadas semanalmente, a cada mudança de piquete, sempre no dia de entrada. A massa de forragem (MF) foi determinada utilizando a metodologia de dupla amostragem, através do escore de pastagem, onde cada piquete era avaliado visualmente como um todo, então usando um quadrado plástico com área conhecida (0,25m²), eram definidos os escores, o escore 1 era considerado o ponto com menor altura e densidade de pastagem (Figura 3.A) e o escore 5 o ponto com maior altura e densidade (Figura 3.B), sendo os escores 2, 3 e 4 intermediários e crescentes entre os escores 1 e 5, e foi coletado todo o pasto de dentro do quadrado. Em cada piquete se realizou a avaliação dos escores individualmente, então o quadrado era aleatoriamente lançado pelo menos 35 vezes dentro das unidades experimentais (UE), fazendo o levantamento da proporção de cada escore na UE. As amostras foram acondicionadas em uma estufa com circulação de ar forçado a 105° C, até que o peso ficasse constante para determinação da massa seca, e os dados foram expressos em kgMS*100KgPC-1 /d.

As análises qualitativas foram obtidas a partir da coleta da forragem aparentemente consumida pelos animais. Assim, todas as amostras obtidas foram submetidas a procedimentos laboratoriais sendo avaliados os conteúdos de teores de matéria seca (MS), por secagem à 105 °C por 12 horas a matéria orgânica (MO), a matéria mineral (MM), por queima em mufla à 550 °C (AOAC

método no. 22.010 e no. 7.010, 1975), proteína bruta (PB) pelo método de Kjeldahl (AOAC método no. 2.036, 1960 e no. 2049, 1975), fibra em detergente neutro (FDN) e Fibra em detergente ácido (FDA), segundo Van Soest & Robertson (1991).

Figura 3. ^AQuadrado com pastagem classificada com escore 1 em determinada UE. ^BQuadrado com pastagem classificada com escore 5 na mesma UE.



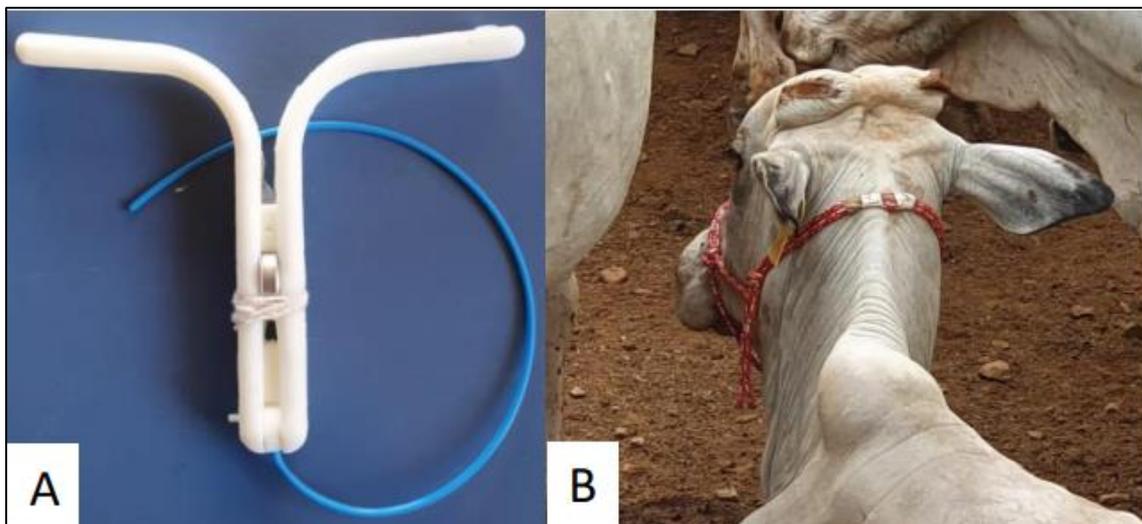
Fonte: Arquivo pessoal

Os dados climáticos de temperaturas de bulbo seco ($T_{bs}^{\circ}\text{C}$), ponto de orvalho ($T_{po}^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa do ar (%UR), foram obtidos através de uma estação meteorológica móvel (Instrutemp® ITWH-1080, Instrutemp, São Paulo, Brasil), montada próximo da área onde ficavam os animais. Com base nestas informações foi calculado o índice de temperatura e umidade (THI - Temperature Humidity Index), através da equação (Dikmen and Hansen, 2009): $\text{THI} = (1.8 \times T + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times \text{UR}) \times (1.8 \times T - 26)]$, onde T é a temperatura do ar ($^{\circ}\text{C}$) e UR a umidade relativa do ar (%).

A temperatura interna (TI) e externa (TE) foi aferida nos animais das repetições 4 e 6. Para a TI foi avaliada entre os dias -9 e -2, em relação ao dia da inseminação artificial, alguns animais permaneceram com o dispositivo intravaginal, e acoplado a ele estava um termômetro ThermoChron® DS 1921H (Ibutton®, ThermoChron, Whitewater, USA; Figura 4.A), que aferiu a temperatura

vaginal de 78 animais (GC n=38; GM n=40) com intervalo de 60 minutos, totalizando 24 leituras por dia. Foram excluídos nas análises o D-9 e D-2 devido ao manejo dos animais, pois poderiam causar interferência na temperatura interna, sendo seis dias aferidas as temperaturas, totalizando 11.232 registros de temperatura interna. A temperatura externa também foi aferida entre os dias -9 e -2, em relação ao dia da inseminação artificial, alguns animais permaneceram com um cabresto, e preso neste estava um termômetro Thermochron® DS 1921H (Ibutton®, Thermochron, Whitewater, USA; Figura 4.B), que aferiu a temperatura externa de 39 animais (GC n=19; GM n=20) com intervalos de 60 minutos, totalizando 24 leituras por dia. Foram excluídos nas análises o D-9 e D-2 devido ao manejo dos animais, pois poderiam causar interferência na temperatura interna, sendo seis dias aferidas as temperaturas, totalizando 5.616 registros de temperatura externa.

Figura 4. ^ATermômetro Thermochron® acoplado ao dispositivo intravaginal. ^BTermômetro Thermochron® em um cabresto posicionado na nuca do animal para aferição da temperatura externa



As amostras de sangue foram coletadas de um subgrupo de vacas, sempre dos mesmos animais, sendo as coletas: no início do experimento (D-28), no dia da colocação do implante nos animais (D-9), no dia 14 pós Inseminação Artificial (IA) e no dia do diagnóstico de gestação (D28). Os animais foram contidos no tronco e então, feita a coleta através da punção da veia coccígea, nos dias -28, -9 e 28 foram coletados dois tubos, um com anticoagulante EDTA e outro com ativador de coágulo, sendo depositada uma alíquota de 250 µg do sangue coletado no tubo com EDTA em um criotubo com 750 µg de Trizol e

instantaneamente congelada em nitrogênio líquido. No d14 foi coletado um tubo com anticoagulante heparina de sódio. As amostras foram centrifugadas e armazenadas para posteriores avaliações, perfil de aminoácidos, expressão gênica e progesterona. Para avaliar a expressão relativa de HSP foi utilizado o método CT comparativo, descrito por Komiyama et al., 2008.

O protocolo de sincronização utilizado foi: D-9, inserção do dispositivo intravaginal (DIV) de progesterona 1,00g (Repro neo®, GlobalGen Vet Science) novo, 2,00mg de benzoato de estradiol (Syncrogen®, GlobalGen Vet Science) e 0,50mg de cloprostenol sódico (Induscio®, GlobalGen Vet Science) via intramuscular (IM); ao sétimo dia (D-2), após a remoção do DIV, foram aplicados 0,50mg de cloprostenol sódico (Induscio®, GlobalGen Vet Science), 300UI de Gonadotrofina Coriônica Equina (ECCGen®, GlobalGen Vet Science) e 0,6mg de cipionato de estradiol (Cipion®, GlobalGen Vet Science) IM. Dois dias depois, no d0 aconteceu a aplicação de 8,4µg de GnRH, e a técnica da IATF. Em todos os manejos os animais de cada repetição, tratamento e controle, foram manejados em conjunto até a IATF. A distribuição do sêmen utilizado para inseminação ocorreu de acordo com o manejo da fazenda, sendo aleatoriamente dividido entre os grupos. Após o diagnóstico de gestação no D30 os animais foram resincronizados, utilizando o mesmo protocolo citado anteriormente.

Para o desempenho zootécnico, foram avaliados ganho de peso das vacas e bezerros e avaliação de escore de condição corporal (ECC), para isso foi realizado três momentos de pesagem, a primeira pesagem ocorreu no início do experimento (D-28) por meio de amostragem, sendo realizadas em 20 animais de cada grupo na repetição 4 e em todos os animais dos dois grupos na repetição 6. Nos dias -9 e 28, segunda e terceira pesagem, foram realizadas em todas as vacas dos dois grupos e de todos os bezerros. Nesses mesmos momentos também foram realizadas avaliações de escore de condição corporal (ECC) nas vacas.

Para as variáveis reprodutivas no D-9 foi realizada a avaliação ultrassonográfica, utilizando um aparelho portátil (Mindray, 2200 Vet), em todas as vacas do estudo a fim de verificar a presença ou não de corpos lúteos nos animais, assim como diagnosticar qualquer alteração que pudesse estar ocorrendo. No D-2 e no D0 foi realizada a ultrassonografia, com o mesmo aparelho, para avaliar o tamanho dos folículos, sendo realizada por amostragem.

Na primeira repetição foram avaliados 23 animais no GC e 21 no GM, na repetição 4 foram avaliadas 23 vacas do GC e 24 do GM, na repetição 5 foram avaliados 27 animais do GC e 25 do GM e na sexta repetição, foram avaliados 35 animais de cada grupo. Na quarta e sexta repetição, no D14, as vacas foram submetidas para avaliação da presença e tamanho do corpo lúteo. O diagnóstico de gestação foi realizado 31 ± 2 dias após a IATF e 60 ± 2 , sob supervisão do médico veterinário contratado pela Fazenda Figueira. Os exames foram realizados via transretal, utilizando um aparelho portátil (Mindray, 2200 Vet).

Figura 5. Cronograma de coletas do experimento realizado com vacas nelores suplementadas ou não com metionina protegida da deградação ruminal



Fonte: arquivo pessoal

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software NCSS v.9 (NCSS Statistical System, Kaysville, UT, USA). Os dados de temperatura das vacas foram avaliados por medidas repetidas no tempo, considerando-se os efeitos fixos de tratamento (metionina e controle), dia e hora (para temperatura) do estudo e suas interações. As demais variáveis de desempenho (pesos no início da suplementação, início e final do protocolo e diagnóstico de gestação, bem como os ganhos de peso nos períodos), metabolismo de aminoácidos, crescimento e tamanho foliculares, tamanho do corpo lúteo e concentração plasmática de progesterona, foram testados para os efeitos fixos de tratamento (metionina e controle), ordem do parto (primíparas e multíparas) e suas interações. Os dados binários (taxa de prenhez aos 28 e 60) dias foram comparados através do teste de qui-quadrado. Os dados de oferta de forragem

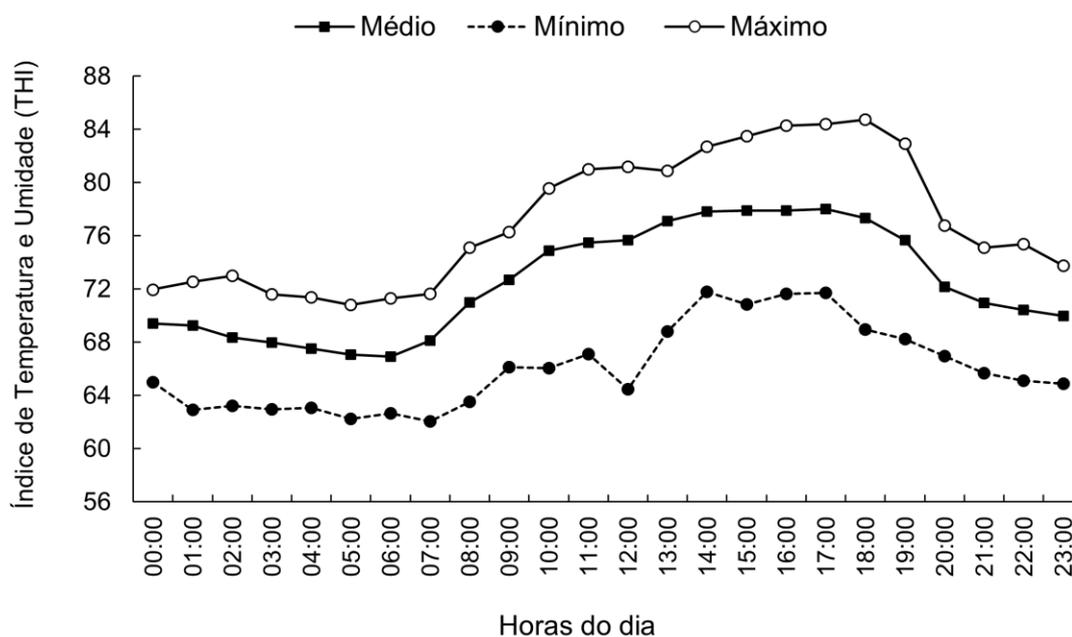
e consumo de sal foram submetidos a comparação de médias através do teste de T student para amostras independentes. Foram considerados como significativos os resultados $P < 0,05$ e como tendência caso $P > 0,05$ e $\leq 0,10$.

Capítulo 4

Resultados e Discussão

O consumo de sal (g/vaca/dia, GC: 114,76±4,70 e GM: 122,17±5,34, P=0,30), e a oferta de forragem (kg/MS/100kg PC/dia, GC: 38,38±3,71 e GM:38,95±4,44, P=0,92), não diferiram entre os grupos. O Índice de Temperatura e Umidade (THI) é uma ferramenta eficiente e combina os efeitos da temperatura e umidade relativa do ar (UR%). Na Figura 6, é apresentado o THI mínimo, médio e máximo nas horas do dia, monitorados durante os meses de verão. E foi observado que o THI mínimo variou entre 62 e 72, o médio entre 67 e 78 e o THI máximo entre 71 e 85. Os horários de desafio foram entre as 9 e 20 horas, momento em que o THI foi superior a 72.

Figura 6. THI médio, mínimo e máximo medido durante 6 dias consecutivos de cada repetição, mas apresentado em intervalos de 1 hora. Calculado de acordo com NRC (1971) como: $THI = (1,8 \times T_{db} + 32) - [(0,55 - 0,0055 \times UR) \times (1,8 \times T - 26)]$, onde T é a temperatura do ar (°C) e UR a umidade relativa do ar (%).



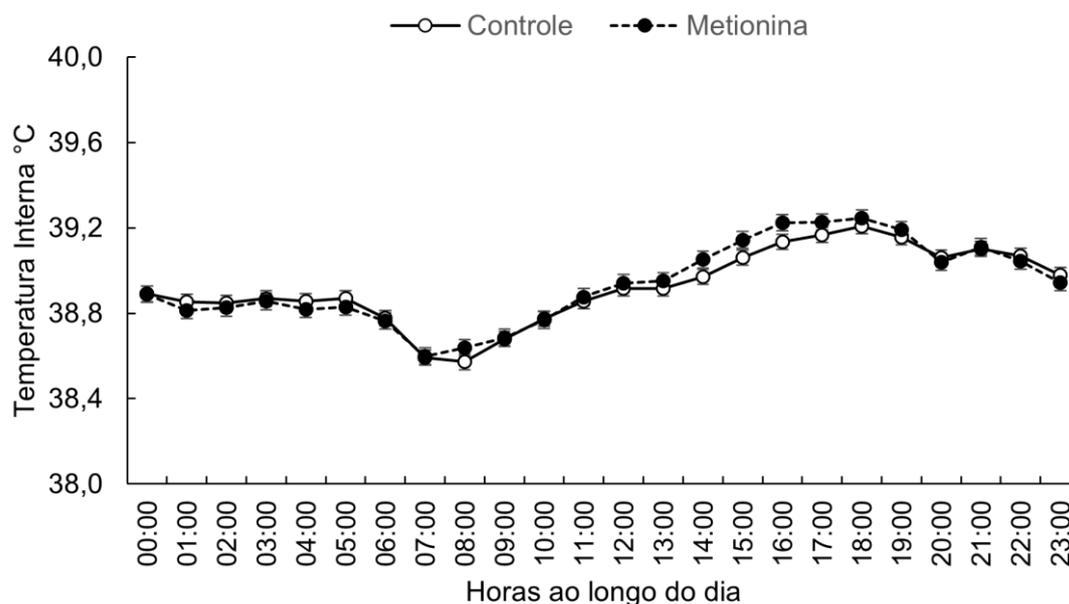
Fonte: Arquivo pessoal

A Livestock Conservation, organização sem fins lucrativos, desenvolveu o Índice de Segurança Climática para Bovinos, categorizando o THI em 4 classes: normal, THI < 74; alerta, THI entre 74 e 79; perigo, THI entre 79 e 84; e emergência, THI > 84 (Brown-Brandl, 2018). Outros autores relatam que um THI de 72 seria o ponto de partida para influenciar no metabolismo (Ravagnolo et al.,

2000; Liu et al., 2019), no entanto, estudos recentes realizados em vacas leiteiras de alto rendimento, mostrou haver uma redução na produção de leite com THI acima de 68 (Zhou et al., 2022; Pinto et al.;2020). Essa variação mostra que o THI de alerta, varia de acordo com a aptidão produtiva, o nível de produção, raça e categoria animal.

A oscilação na temperatura corporal é um fator importante na termorregulação, por isso apresentamos a temperatura Interna e externa nas figuras 7 e 8, respectivamente.

Figura 7. Temperatura Interna dos animais do grupo controle e metionina, apresentada em intervalos de 60 minutos. Foi encontrado efeito estatísticos para as horas ($P<0,001$), para tratamento ($P=0,817$) e a interação entre tratamento e hora ($P=0,470$) não observamos efeito.



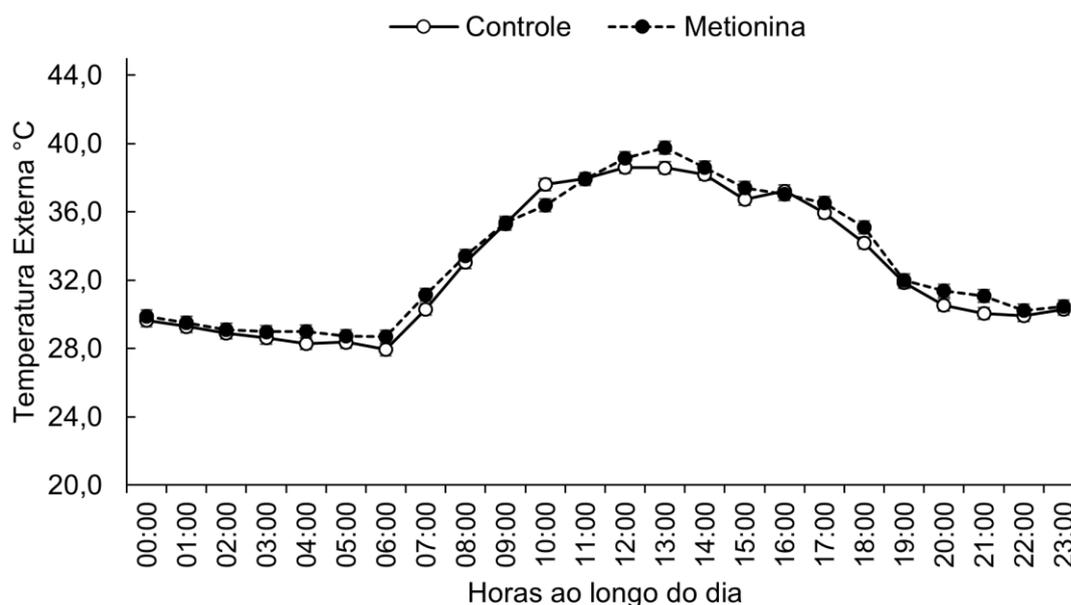
Fonte: Arquivo pessoal

Observa-se na figura acima, que não houve efeito da suplementação com metionina na temperatura interna ($GC=38,92\pm0,036$ e $GM=38,93\pm0,036$; $P=0,817$) o que pode estar relacionado à adaptação ao estresse térmico nas raças zebuínas. Essa capacidade superior de regulação da temperatura corporal é o resultado de taxas metabólicas mais baixas, que está relacionado ao tamanho reduzido dos órgãos internos (Hardy, 1961; Hansen, 2004). Outro fator relevante é a capacidade de perda de calor, que é associado ao maior tamanho de glândulas sudoríparas, e essas ser mais próximas da superfície da pele o que

auxilia na taxa de sudorese em animais *Bos taurus indicus* (Gaughan et al., 1999).

Não foi verificado o efeito para tratamento na temperatura externa (Figura 8) (GC= $32,80 \pm 0,42$ e GM= $33,19 \pm 0,45$; $P=0,53$), resultado que corrobora com o anterior. Contudo observamos que ambos os grupos apresentaram uma elevação na temperatura da pele durante o dia (7:00 às 18 horas), em relação ao período da noite. Em condições de elevadas temperaturas, a transferência circulatória de calor para a pele pode ser drasticamente aumentada por meio de dois mecanismos (Gagge E Gonzales, 2010). Primeiro, as arteríolas dos leitos vasculares cutâneos se dilatam, o que resulta em aumento do fluxo sanguíneo capilar (Hansen, 2004; Chong et al., 2009). Em segundo lugar, abrem-se anastomoses arteriovenosas nos membros, nas orelhas e no focinho. Essas duas ações aumentam bastante o fluxo total de sangue para a periferia, e a maior liberação de calor eleva a temperatura da pele, o que facilita a perda de calor (Hansen, 2004).

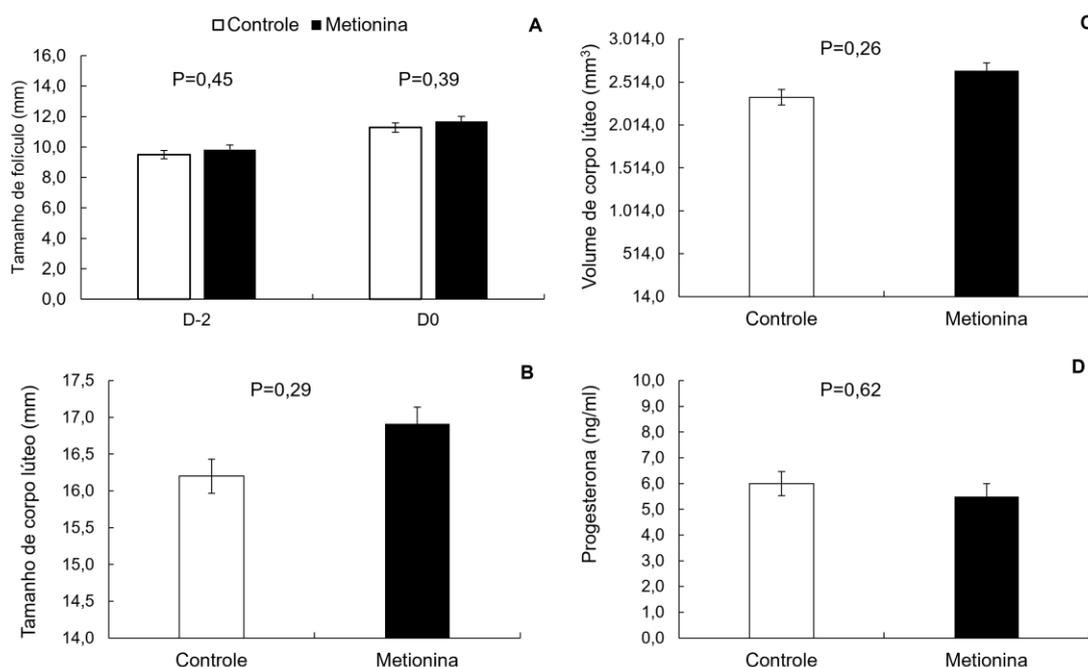
Figura 8. Temperatura externa dos animais do grupo controle e metionina, apresentada em intervalos de 60 minutos. Foi encontrado efeito estatístico para as horas ($P<0,001$), para tratamento ($P=0,530$) e a interação entre tratamento e hora ($P=0,584$) não observamos



Fonte: Arquivo pessoal

As avaliações reprodutivas são apresentadas na Figura 9, não foi encontrada diferença estatística entre os grupos para tamanho de folículos no D-2 e D0 (GC=9,50±0,28 e GM=9,83±0,30, P=0,45; GC=11,28±0,31 e GM=11,69±0,32, P=0,39, respectivamente, Figura 9.A) para tamanho e volume de corpo lúteo (GC=16,20±0,23 e GM=16,91±0,23, P=0,29, Figura 9.B; GC=2337±90,06 e GM=2648±90,06, P=0,26, Figura 9.C, respectivamente) e para progesterona plasmática (GC=6,00±0,47 e GM=5,50±0,50, P=0,62, Figura 9.D).

Figura 9. ^ATamanho médio do folículo pré-ovulatório (mm) avaliado no D-2 e D0 em relação ao protocolo de IATF. ^BProgesterona plasmática (ng/mL) avaliada no D14 em relação ao protocolo de IATF. ^CTamanho de corpo lúteo (mm) avaliado no D14 em relação ao protocolo IATF. ^DVolume de corpo lúteo (mm³) avaliado no D14 em relação ao protocolo de IATF.



Fonte: Arquivo pessoal

Estudos desenvolvidos com bovinos leiteiros relatam um efeito negativo do THI ≥ 74 na reprodução, para cada ponto adicional no THI no dia do estro, ocorreu uma redução de 0,1 mm no tamanho folicular (Schuller et al., 2017). No estudo o THI médio ≥ 74 ocorreu entre os períodos das 10 às 19 horas, porém não se observou efeito da suplementação de metionina no tamanho do folículo, o que pode estar relacionado com as características de adaptação das raças zebuínas ao calor.

Outro problema, pouco mencionado, está relacionado aos efeitos de transferência do estresse térmico do verão para a fertilidade no outono, que é

atribuído a danos ao ovócito, e o envolvimento do folículo (Roth, 2018, Roth et al., 2001). Este intervalo entre a exposição e o efeito observado é devido ao tempo que leva para os folículos e seus oócitos fechados e danificados crescerem até a ovulação ou renovação, já que são necessários aproximadamente 40-50 dias para que os folículos antrais se desenvolvam em grandes folículos dominantes (Roth et al., 2001, Rhoads,2023).

Vacas que são submetidas a protocolos de IATF e que ovulam um folículo/oócito danificado pelo estresse térmico, tem a probabilidade de fertilização diminuída (Roth et al., 2001), e os oócitos danificados que são fertilizados com sucesso também são problemáticos, pois têm menos probabilidade de se desenvolverem em um embrião viável (Rhoads,2023).

Pfeifer et al. (2009) e Vasconcelos et al. (2001) encontraram uma correlação entre diâmetro folicular e o volume do CL no ciclo subsequente, isso acontece devido a formação do CL ocorrer através da transformação de células foliculares em células luteais, o que indica que folículos menores por ter menor quantidade de células darão origem a um CL com volume menor (Perry e Perry, 2005). O volume de CL também está relacionado à taxa de prenhez, onde Vasconcelos et al. (2001) demonstraram que CL de menor volume resultam em menor taxa de prenhez, uma vez que a capacidade do CL de produzir progesterona é dependente do seu volume e do fluxo sanguíneo (Pfeifer et al., 2009).

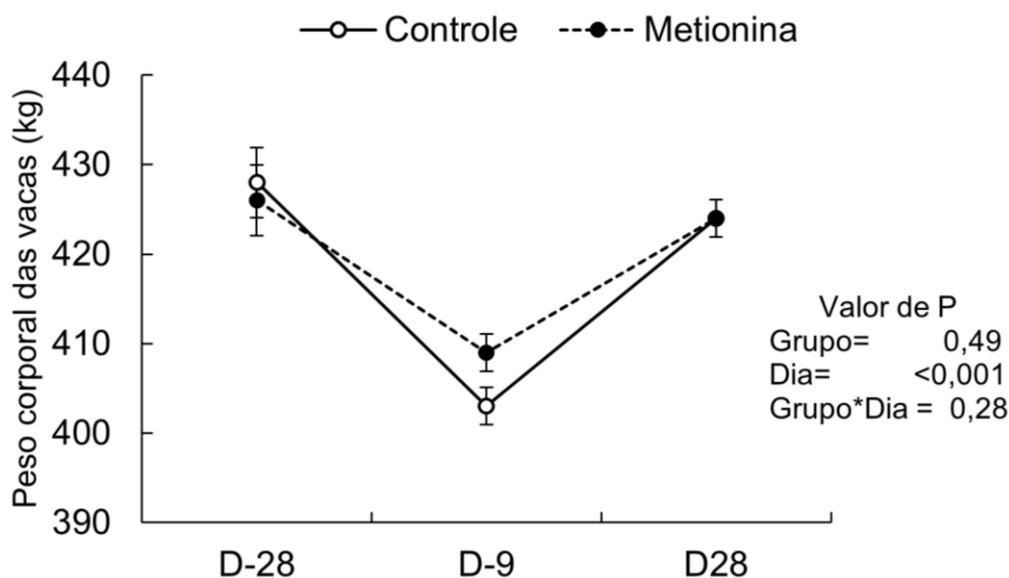
Na tabela 3 apresentamos os resultados de perdas embrionárias e taxa de prenhez aos 30 e 60 dias. E observamos que as perdas embrionárias e a taxa de prenhez no D30 e D60 não diferiram entre os grupos ($P>0,05$), o que está de acordo com outros estudos (Clements et al., 2017; Moriel et al., 2020; Palmer et al., 2020).

Tabela 3. Comparação pelo teste qui-quadrado para perdas embrionárias (%) e taxa de prenhez (%) entre vacas controle e metionina.

Item	Controle	Metionina	P-valor
Perdas embrionárias	3,2% (9/279)	3,9% (11/283)	0,67
Prenhez D30	65% (279/429)	65,4% (283/433)	0,92
Prenhez D60	85,5% (367/429)	81,3% (352/433)	0,09

Os dados de desempenho das vacas e dos bezerros, será apresentado a seguir. Para o desempenho das vacas, não encontramos efeito para peso corporal médio (GC=418±1,37 e GM=420±1,37, P=0,49), e não houve interação entre grupo e dia (P=0,28) em ambos os grupos os animais perderam peso no D-9, recuperando posteriormente (Figura 10).

Figura 10. Peso corporal de vacas nelore apresentado em quilogramas avaliado em três momentos (D-28, D-9 e D28).

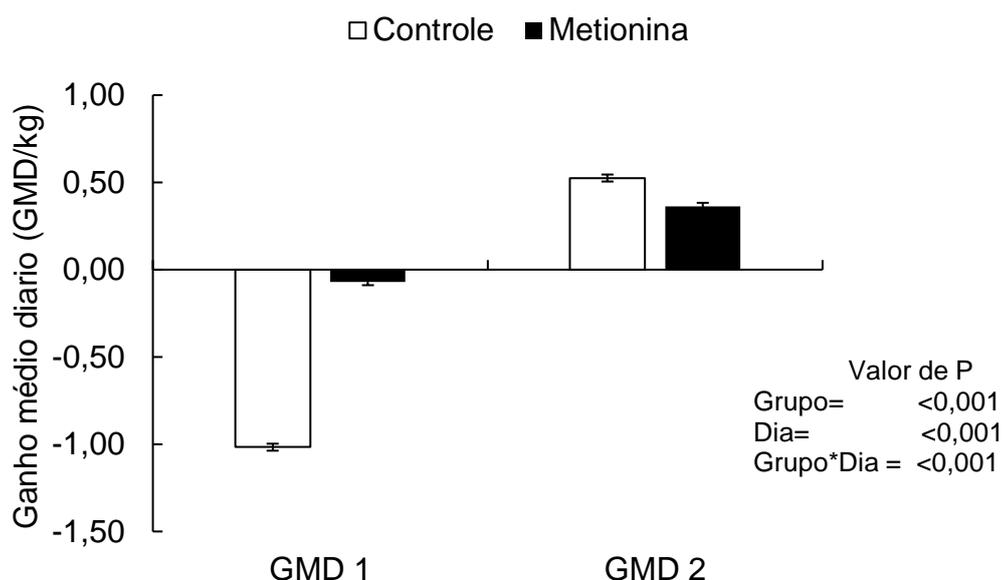


Essa diminuição no peso corporal no D-9, pode estar relacionada ao manejo dos animais e a curva de lactação (Albertini et al., 2007). Estudos realizados em bovinos leiteiros da raça Holandês, relatam uma perda de peso no pós-parto, refletindo o início do catabolismo de reservas corporais (Rennó et al., 2006; Koenen et al., 1999; Buckley et al., 2000). Redifer et al., (2023) realizou um estudo com a suplementação de metionina para novilhas de corte da raça Angus, e encontrou uma redução em média de 42 kg de peso corporal.

A transição entre o final da gestação para a lactação envolve um grande desafio metabólico, menos acentuado em bovinos de corte, mas ainda assim existente, pois o animal passa de um período lipogênico não lactante para um estado de aumento na demanda energética para a produção de leite (Zachut e Moallem, 2017).

Para o ganho médio diário (GMD) das vacas, encontramos um efeito positivo da suplementação com metionina (GC= $-0,246 \pm 0,02$; GM= $0,14 \pm 0,02$, $P < 0,001$). Na figura 11, apresentamos os valores médios de GMD para os momentos de avaliação, e observamos que no GMD 1 os animais do grupo metionina apresentaram uma perda de peso menos acentuada quando comparado com o grupo controle (GC= $-1,017 \pm 0,02$ e GM= $-0,069 \pm 0,02$, $P < 0,001$).

Figura 11. Ganho médio diário de vacas nelore, apresentado em kg/dia. GMD 1 corresponde ao período entre D-28 e D-9, totalizando 19 dias. GMD 2 corresponde ao período entre o D-9 e D28, totalizando 37 dias.



Fonte: Arquivo pessoal

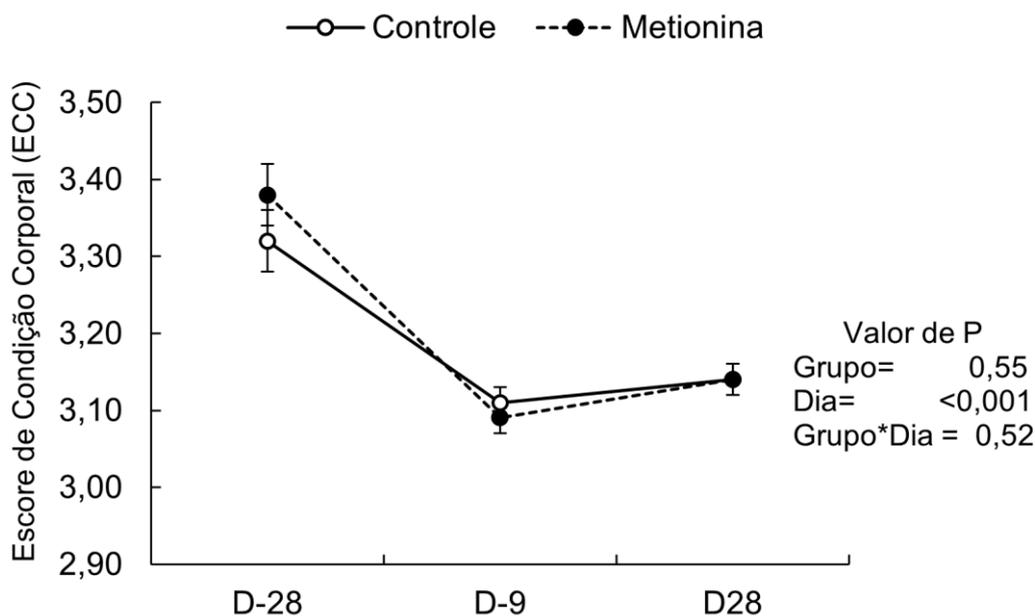
Esse efeito da metionina pode estar associado à sua capacidade de auxiliar no estresse oxidativo. Vacas leiteiras com perda de peso no pós-parto, aumentam os níveis de ácidos graxos não esterificados (AGNEs), devido a mobilização de gordura, o que potencializa o estresse oxidativo (Bradford et al., 2015). Além de que, o aumento de ácidos graxos circulantes pode também induzir à resistência à insulina (Pires et al., 2007). Esse processo, inibe a entrada de glicose nas células o que impulsiona o organismo a intensificar a deposição de gordura (Freeman et al., 2023), o que está de acordo com o encontrado em nosso trabalho, pois apesar da perda de peso acentuada no grupo controle (GC=25kg e GM=17kg), o escore de condição corporal médio

(ECC) não diferiu entre os grupos ($GC=3,19\pm 1,44$, $GM=3,20\pm 0,01$, $P=0,55$) (Figura 12).

O GMD 2 também diferiu entre os grupos ($GC=0,525\pm 0,02$ e $GM=0,363\pm 0,02$, $P<0,001$, Figura 11), sendo o grupo controle o que apresentou desempenho superior. Esse resultado pode estar relacionado ao ganho compensatório (Salem e Smith, 2008). Esse fenômeno é comum em animais de recria, que após um período de restrição alimentar suficiente para deprimir o crescimento contínuo, apresentam taxa de crescimento acima do normal, ao reiniciar uma alimentação adequada (Barbosa et al., 2016). ST-Pierre (2003), relata que leitões de matrizes em estresse térmico apresentam fortes ganhos compensatórios pós-desmame, anulando a maior parte do efeito das altas temperaturas (Renaudeau e Noblet, 2001; Renaudeau et al., 2001).

No entanto ressaltamos que o desempenho do grupo controle no D28, não interferiu no ECC. Mostrando que apesar do ganho compensatório o GMD médio foi superior para o grupo metionina como citado anteriormente.

Figura 12. Escore de Condição Corporal de vacas nelore ao longo do período experimental.



Fonte: Arquivo pessoal

A suplementação com metionina, interferiu no desempenho dos bezerros que apresentaram um GMD superior em comparação com os animais controle

(GC=0,837±0,008 e GM=0,884±0,008; P<0,001). O peso corporal, não apresentou efeito para grupo GC=81,72±0,63 e GM=81,23±0,63; P=0,57) e nem interação entre grupo x dia (D-9 e D28; GC=64,83±0,89 e GM=63,35±0,89; GC=98,86±0,89 e GM=99,11±0,89, respectivamente, P=0,30).

Esse resultado pode estar associado ao metabolismo proteico que é beneficiado com a utilização da metionina. A metionina é frequentemente considerada o primeiro aminoácido limitante ou co-limitante para bovinos em crescimento (Richardson & Hatfield, 1978; Redifer et al., 2023). Esse incremento no GMD dos filhotes de vacas suplementadas, pode estar relacionado à composição do leite, variável esta não monitorada no presente trabalho. Um estudo conduzido em novilhas de corte por Redifer et al., (2023), mostrou que a concentração de gordura no leite aumentou com a suplementação de metionina, refletindo no ganho de peso. Já Clements et al. (2017) não observaram efeito da suplementação na qualidade do leite.

A suplementação com metionina não afetou o peso dos bezerros, o que concorda com outros estudos conduzidos em novilhas de corte (MORIEL et al., 2020) e vacas (Clements et al., 2017; Collins et al., 2019). Já Moisés et al., (2019) observou um resultado positivo no peso dos bezerros nascidos de mães suplementadas com metionina. Os resultados relacionados a peso, ainda são inconsistentes, e isso pode estar relacionado à fonte e quantidade de metionina suplementada, a duração e ao momento da suplementação (Keneedy et al., 2019).

A suplementação com metionina protegida da degradação ruminal, melhora o balanço de aminoácidos plasmáticos (Tabela 4), o que indica que a metionina beneficia o metabolismo proteico. Como mencionamos anteriormente os aminoácidos são usados como fonte de energia pelo organismo, e isso ocorre através do seu catabolismo, que envolve reações anapleróticas (reações químicas que formam intermediários das vias metabólicas) (Nelson e Cox, 2002). Dessa forma os aminoácidos são classificados de acordo com intermediários produzidos: sendo eles glicogênicos (intermediários da gliconeogênese); cetogênicos: intermediários da cetogênese e glicogênicos e cetogênicos (ambas as vias) (Stryer, 1996).

Tabela 4. Perfil de aminoácidos plasmáticos de vacas da raça nelore suplementadas com metionina e submetidas a alto THI.

Item	Tratamento				p-valor
	Controle		Metionina		
Asparato ^b (µmol/L)	2,73	±0,67	4,73	±0,46	0,04
Glutamina ^b (µmol/L)	120,78	±6,11	142,17	±4,22	0,01
Alanina ^b (µmol/L)	267,78	±11,60	327,20	±8,01	<0,001
Lisina ^a (µmol/L)	85,37	±4,49	98,41	±3,10	0,05
Prolina ^b (µmol/L)	55,42	±2,29	68,24	±1,58	<0,001
Serina ^b (µmol/L)	83,67	±3,05	88,41	±2,11	0,29
Glutamato ^b (µmol/L)	93,37	±3,68	107,05	±2,54	0,01
Metionina ^b (µmol/L)	9,42	±0,49	10,79	±0,34	0,06
Histidina ^b (µmol/L)	26,87	±1,29	32,25	±0,89	0,005
Isoleucina ^c (µmol/L)	94,79	±3,63	107,11	±2,51	0,02
Leucina ^a (µmol/L)	122,03	±4,41	135,93	±3,04	0,03
Fenilalanina ^c (µmol/L)	54,79	±1,45	57,93	±1,00	0,14
Treonina ^c (µmol/L)	65,32	±3,33	69,73	±2,30	0,36
Triptofano ^c (µmol/L)	43,23	±1,32	39,68	±0,91	0,07
Valina ^b (µmol/L)	211,00	±7,44	230,79	±5,14	0,07

^aAminoácidos cetogênicos. ^bAminoácidos glicogênicos. ^cAminoácidos Cetogênicos e Glicoênicos.

Os aminoácidos cetogênicos (Lisina e Leucina) são aqueles que não podem ser convertidos em glicose, o que induz a entrada obrigatória no Ciclo do Ácido Cítrico para a transformação da Acetil-coA em ATP/energia, corpos cetônicos e ácidos graxos ou colesterol (Voet et al., 2000, Nelson e Cox, 2002). E os Glicogênicos (Alanina, Arginina, Asparagina, Ácido aspártico, Cisteína, Ácido glutâmico, Glutamina, Glicina, Histidina, Metionina, Prolina, Serina, Valina) são aqueles que são convertidos em piruvato (serina, cisteína, glicina, alanina e treonina), succinil-CoA (metionina, isoleucina, valina e treonina), Oxaloacetato (da asparagina via aspartato), α -cetoglutarato (glutamina, arginina, histidina, prolina via glutamato) e Fumarato e são usados para produzir energia ou como substratos para a gliconeogênese (Voet et al., 2000, Nelson e Cox, 2002)..

A glutamina e o glutamato são aminoácidos que auxiliam na produção de ATP pelos linfócitos, células de defesa (LI et al., 2007), e mostraram diminuir as

concentrações de proteínas de fase aguda negativa (haptoglobina), em vacas da raça Holandês, indicando uma redução no processo inflamatório (Jafari et al., 2006). Também mostrou melhorar o consumo, produção de leite, glicose plasmática e proteína total (Nemati et. al, 2018). Além de auxiliar na função hepática e diminuir o estresse metabólico (menor circulação de ácidos graxos livres), sugerindo um efeito benéfico da suplementação de glutamina (Chalvon-Demersay et al., 2021).

A lisina, metionina e histidina, mostraram reduzir a temperatura retal em vacas em estresse térmico (ITU = 76 a 82) (LOOR et al., 2023). Coleman et al. (2022) sugeriram que o aumento do suprimento pós-ruminal de metionina, ajudou a manter a homeostase da sinalização da insulina e o estado gliconeogênico do fígado. A metionina aumenta o fluxo da via de transulfuração, estimulando a produção dos antioxidantes, taurina e glutathione, reduzindo o estresse oxidativo e a inflamação (Coleman et al., 2020, Coleman et al., 2021).

A arginina é um importante substrato que junto com SAM do ciclo da metionina auxilia na síntese de moléculas que são potentes antioxidantes (Ma et al., 2021). Estudos *in vitro*, relatam que a metionina atua para modular a resposta imune (Coleman et al., 2021). Quando comparado às células polimorfonucleares (PMN) não suplementado com metionina, a suplementação aumenta efetivamente a produção de antioxidantes (conferindo proteção aos processos celulares contra radicais livres e espécies reativas de oxigênio-EROs), sinalização inflamatória, imunidade inata e as características citoprotetoras, através da regulação positiva das HSPs (Coleman et al., 2021). Assim, em conjunto, os efeitos moduladores do fornecimento de metionina nas células do sistema imunológico inato destacam uma oportunidade de utilizá-la durante o estresse térmico.

A metionina está envolvida na síntese de glutathione, o principal antioxidante intracelular. Osório et al. (2014) e Batistel et al., (2018), suplementaram vacas leiteiras e observaram maior capacidade de absorção de radicais de oxigênio nesses animais em comparação com animais controle. Concordando, Zhou et al. (2016) relataram aumento da concentração de glutathione em vacas suplementadas; enquanto os metabólitos reativos do oxigênio permaneceram inalterados. Observamos que os AA em geral, estão presentes no metabolismo, estimulando a produção de antioxidantes. Esse

acréscimo nas concentrações de AA encontrada em nosso estudo (Tabela 4) pode indicar um efeito positivo na adaptação do organismo às altas temperaturas.

A seguir apresentamos a Tabela 5, que mostra o efeito da suplementação de metionina na expressão relativa das HSP 70 e 90, e observamos haver um efeito positivo na suplementação para a HSP 70. A metionina modula a resposta metabólica e auxilia na proteção das células. No entanto não observamos efeito para a HSP 90.

Tabela 5. Expressão relativa das Proteínas de Choque Térmico (HSP) de vacas da raça nelore submetidas a altas temperaturas e suplementadas ou não com metionina protegida da degradação ruminal.

Item	Tratamento				p-valor
	Controle		Metionina		
HSP 70	2,36	0,49	4,80	0,44	0,010
HSP 90	3,72	0,98	3,28	0,81	0,817

Essa proteção celular, é um mecanismo importante contra o estresse calórico e é modulado pela produção de proteínas de choque térmico (HSP), sendo a HSP70 a HSP mais abundante produzida (Cartwright et al., 2021). O aumento na temperatura corporal central pode causar dobramento incorreto das proteínas celulares, levando à interrupção da organização das organelas celulares e prejudicando os processos de transporte intercelular (Richter et al., 2010). Portanto, a expressão de HSP aumenta durante períodos de temperaturas ambientais elevadas e atuam auxiliando na reparação da célula e facilitando o redobramento das proteínas para retornar a célula ao seu estado original (Richter et al., 2010, Collier et al., 2019).

Um estudo conduzido por Cartwright et al., (2021) avaliou a expressão da HSP 70 em células mononucleares (linfócitos e monócitos) de vacas classificadas em três níveis de resposta imunitária (alta, média e baixa) e submetidas a estresse térmico, e observou que houve efeito na expressão da HSP 70 em animais de imunidade alta (10,58 ng/ml, em comparação com os termoneutros 9,53 ng/ml, P= 0,03) e baixa (9,85 ng/ml em comparação com os termoneutros 8,46 ng/ml, P= 0,006). E não foram encontrados efeitos para a

expressão da HSP 70 para animais de imunidade média. Mostrando que vacas identificadas como tendo uma resposta imune alta podem ser mais termotolerantes em comparação com respostas imunes médias e baixas.

Capítulo 5

Considerações Finais

Com base nos dados apresentados, conclui-se que a suplementação com metionina protegida da degradação ruminal, melhorou o ganho de peso de vacas e bezerros, a concentração de aminoácidos plasmáticos e a expressão gênica da HSP70. No entanto não apresentou efeito na temperatura corporal e na taxa de prenhez.

Capítulo 6

Referências Bibliográficas

ABREU, Vitória Gomes et al. A importância da alimentação na hipertrofia. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 14, p. e431101422041-e431101422041, 2021.

ADAMIAK, S. J. et al. Body composition, dietary carbohydrates and fatty acids determine post-fertilisation development of bovine oocytes in vitro. **Reproduction**, v. 131, n. 2, p. 247-258, 2006.

ADAMIAK, S. J. et al. Impact of nutrition on oocyte quality: cumulative effects of body composition and diet leading to hyperinsulinemia in cattle. **Biology of reproduction**, v. 73, n. 5, p. 918-926, 2005.

AGGARWAL, Anjali; UPADHYAY, Ramesh. **Heat stress and animal productivity**. Delhi, India:: Springer, 2013.

ALBERTINI, Tiago Zanetti et al. Características das curvas de lactação de vacas de corte cruzadas obtidas por diferentes métodos. **Anais; O avanço científico e tecnológico na produção animal**, 2007.

ALMEIDA, Bibiana Sgorla de et al. A expressão de proteínas de choque térmico (HSP) e da bomba MRP1/GS-X no miocárdio e gastrocnêmio de ratos treinados: possível mecanismo contra o estresse oxidativo induzido pelo exercício. **Salão de Iniciação Científica (17.: 2005: Porto Alegre, RS). Livro de resumos. Porto Alegre: UFRGS, 2005.**, 2005.

ALMEIDA, Jonathan et al. Regulação hormonal no metabolismo energético de não ruminantes em estado de jejum. **Veterinária e Zootecnia**, v. 28, p. 1-14, 2021.

ALVES, Aldivan Rodrigues et al. Fibra para ruminantes: Aspecto nutricional, metodológico e funcional. **Pubvet**, v. 10, p. 513-579, 2016.

AMARAL, Cátia Lira do. **Avaliação da metilação do gene TP53 e instabilidade genômica em ratos expostos a metionina e doxorrubicina**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

AMMER, Stefanie; LAMBERTZ, Christian; GAULY, Matthias. Comparison of different measuring methods for body temperature in lactating cows under different climatic conditions. **Journal of Dairy Research**, v. 83, n. 2, p. 165-172, 2016.

ANGEL, S. P. et al. Climate Change and Cattle Production-Impact and Adaptation. **J. Vet. Med. Res**, v. 5, n. 4, p. 1134, 2018.

AQUINO, A. A.; FREITAS JÚNIOR, J. E. de; GANDRA, J. R.; PEREIRA, A. S. C.; RENNÓ, F. P.; SANTOS, M. V. dos. Utilização de nitrogênio não proteico na

alimentação de vacas leiteiras: metabolismo, desempenho produtivo e composição do leite. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 16, n. 4, p. 575–591, 2023.

AZEVEDO, Luciano Araujo et al. Strategies to alleviate heat stress on performance and physiological parameters in feedlot-finished cattle under heat stress conditions. A systematic review-meta-analysis. **Journal of Thermal Biology**, p. 103798, 2024.

BALBINO, Carlos Aberto; PEREIRA, Leonardo Madeira; CURI, Rui. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Revista brasileira de ciências farmacêuticas**, v. 41, p. 27-51, 2005.

BARBOSA, F. A. et al. Compensatory gain in performance and economic efficiency of Nellore steers under different feeding regimes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, p. 182-190, 2016.

BARREIROS, André LBS; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química nova**, v. 29, p. 113-123, 2006.

BATISTEL, F. et al. Ethyl-cellulose rumen-protected methionine alleviates inflammation and oxidative stress and improves neutrophil function during the periparturient period and early lactation in Holstein dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 1, p. 480-490, 2018.

BAUMGARD, Lance H.; RHOADS JR, Robert P. Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. **Annu. Rev. Anim. Biosci.**, v. 1, n. 1, p. 311-337, 2013.

BERCHIELLI, Telma Terezinha, PIRES, Alexandre Vaz, DE OLIVEIRA, Simone Gisele. **Nutrição de ruminantes**. 2º edição, Funep. 2011.

BIGGERS, Brian Gregory et al. Effect of heat stress on early embryonic development in the beef cow. **Journal of Animal Science**, v. 64, n. 5, p. 1512-1518, 1987.

BIOLO, Gianni et al. Metabolic response to injury and sepsis: changes in protein metabolism. **Nutrition**, v. 13, n. 9, p. 52-57, 1997.

BRADFORD, B. J. et al. Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 10, p. 6631-6650, 2015.

BRODERICK, G. A.; WALLACE, R. J.; ORSKOV, E. R. Control of rate and extent of protein degradation. In: **Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants**. Academic Press, 1991. p. 541-592.

BROSNAN, John et al. Methylation demand: a key determinant of homocysteine metabolism. **Acta biochimica polonica**, v. 51, n. 2, p. 405-413, 2004.

BROWN-BRANDL, Tami M. Understanding heat stress in beef cattle. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 47, 2018.

BRUMANO, Gladstone. Fatores que influenciam as exigências de metionina+cistina para aves e suínos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 5, n. 6, p. 749-761, 2008.

BUCKLEY, F. et al. The relationship between genetic merit for yield and live weight, condition score, and energy balance of spring calving Holstein Friesian dairy cows on grass based systems of milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 8, p. 1878-1886, 2000.

BUTLER, W. R.; CALAMAN, J. J.; BEAM, S. W. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. **Journal of animal science**, v. 74, n. 4, p. 858-865, 1996.

CARTWRIGHT, Shannon L. et al. Effect of in-vitro heat stress challenge on the function of blood mononuclear cells from dairy cattle ranked as high, average and low immune responders. **BMC Veterinary Research**, v. 17, p. 1-11, 2021.

CASTRO, N. et al. Metabolic and energy status during the dry period is crucial for the resumption of ovarian activity postpartum in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 10, p. 5804-5812, 2012.

CASTRO-MONTOYA, Joaquín M. et al. Interrelationship between diseases and calving season and their impact on reproductive parameters and milk production of tropical dairy cows. **Tropical Animal Health and Production**, v. 54, n. 3, p. 158, 2022.

CATUNDA, A. G. V. et al. O papel da leptina na reprodução dos ruminantes. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, v. 38, n. 1, p. 3-9, 2014.

CHALVON-DEMERSAY, Tristan et al. Functional amino acids in pigs and chickens: implication for gut health. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, p. 663727, 2021.

CHAUHAN, Surinder S. et al. Impact of heat stress on ruminant livestock production and meat quality, and strategies for amelioration. **Animal Frontiers**, v. 13, n. 5, p. 60-68, 2023.

CHEN, Jiangfei et al. Genome-wide identification, classification and expression analysis of the HSP gene superfamily in tea plant (*Camellia sinensis*). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 9, p. 2633, 2018.

CHEN, Z. H. et al. Effect of feeding different sources of rumen-protected methionine on milk production and N-utilization in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 4, p. 1978-1988, 2011.

CHONG, Deborah Yeh; MICHEL, Thomas. Farmacologia do tônus vascular. **Golan DE, Tashjian AH, Armstrong EJ, Armstrong AW. Princípios de Farmacologia: A Base Fisiopatológica da Farmacoterapia. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan**, p. 346-347, 2009.

CILIBERTI, M. G.; CAROPRESE, M.; ALBENZIO, M. Climate resilience in small ruminant and immune system: An old alliance in the new sustainability context. **Small Ruminant Research**, v. 210, p. 106662, 2022.

CLARINDO, Rafael Luis et al. Avaliação de fontes energéticas e protéicas na dieta bovinos confinados em fase de terminação. **Ciência Animal Brasileira/Brazilian Animal Science**, v. 9, n. 4, p. 902-910, 2008.

CLEMENTS, A. R. et al. Effects of supplementing methionine hydroxy analog on beef cow performance, milk production, reproduction, and preweaning calf performance. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 12, p. 5597-5605, 2017.

COLEMAN, D. N. et al. Rumen-protected methionine during heat stress alters mTOR, insulin signaling, and 1-carbon metabolism protein abundance in liver, and whole-blood transsulfuration pathway genes in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 9, p. 7787-7804, 2022.

COLEMAN, Danielle N. et al. Amino acids and the regulation of oxidative stress and immune function in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. Supplement_1, p. S175-S193, 2020.

COLEMAN, Danielle N. et al. Multifaceted role of one-carbon metabolism on immunometabolic control and growth during pregnancy, lactation and the neonatal period in dairy cattle. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 12, n. 1, p. 1-28, 2021.

COLLIER, Robert J. et al. Heat stress: physiology of acclimation and adaptation. **Animal Frontiers**, v. 9, n. 1, p. 12-19, 2019.

COLLINS, Madeline M. et al. 76 Does supplemental protein and rumen-protected methionine improve performance and digestibility during late-gestation in beef cows?. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. Supplement_3, p. 75-75, 2019.

COONEY, Robert N.; KIMBALL, Scot R.; VARY, Thomas C. Regulation of skeletal muscle protein turnover during sepsis: mechanisms and mediators. **Shock**, v. 7, n. 1, p. 1-16, 1997.

COSTA, N. de L. et al. Considerações sobre a degradação da fibra em forragens tropicais associada com suplementos energéticos ou nitrogenados. **Archivos de Zootecnia**, v. 64, n. 247, p. 31-41, 2015.

DE FREITAS, Rafael França Pitão Guimarães. **Linhagens celulares da mucosa gástrica: estrutura e função**. 2012. Tese de Doutorado. Universidade Fernando Pessoa (Portugal).

DE OLIVEIRA, Euclides Reuter et al. Desempenho de novilhos suplementados com sal mineral protéico e energético em pastagem no período da seca. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 28, n. 3, p. 323-329, 2006.

DE RENSIS, F.; GARCIA-ISPIERTO, I.; LÓPEZ-GATIUS, F. Seasonal heat stress: Clinical implications and hormone treatments for the fertility of dairy cows. **Theriogenology**, v. 84, n. 5, p. 659-666, 2015.

DIAZ GONZALEZ, Felix Hilario; SILVA, Sergio Ceroni da. Introdução à bioquímica clínica veterinária. 2017.

DOS SANTOS, Ivan Felismino Charas; ALBERTO, Deise Silva; SANTOS, IFC dos. Proteínas de fase aguda em cães e gatos. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 17, n. 1, 2014.

DROST, M. et al. Conception rates after artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows during summer in Florida. **Theriogenology**, v. 52, n. 7, p. 1161-1167, 1999.

ELZO, Mauricio A.; DE LOS REYES, Arcadio Borjas. Perspectivas da avaliação genética multirracial em bovinos no Brasil. **Ciência Animal Brasileira/Brazilian Animal Science**, v. 5, n. 4, p. 171-185, 2004.

FAVIER, Alain. Le stress oxydant. **L'actualité chimique**, v. 108, n. 10, p. 863-832, 2003.

FREEMAN, A. M.; ACEVEDO, L. A.; PENNINGS, N. **Insulin Resistance**. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. 2023.

GAGGE, A. Pharo; GONZALEZ, Richard R. Mechanisms of heat exchange: biophysics and physiology. **Comprehensive physiology**, p. 45-84, 2010.

GARCIA, A. R. Conforto térmico na reprodução de bubalinos criados em condições tropicais. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 2, p. 121-130, 2013.

GARCIA, Alexandre Rossetto et al. Estresse calórico e reprodução em ovinos: fundamentos e perspectivas tecnológicas. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 45, n. 4, p. 430-442, 2021.

GAUGHAN, J. B. et al. A new heat load index for feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. 1, p. 226-234, 2008.

GAUGHAN, J. B. et al. Heat tolerance of Boran and Tuli crossbred steers. **Journal of animal science**, v. 77, n. 9, p. 2398-2405, 1999.

GAUGHAN, J. B. et al. Heat tolerance of Boran and Tuli crossbred steers. **Journal of animal science**, v. 77, n. 9, p. 2398-2405, 1999.

GEORGE, W. D. et al. Relationship among eye and muzzle temperatures measured using digital infrared thermal imaging and vaginal and rectal temperatures in hair sheep and cattle. **Journal of animal science**, v. 92, n. 11, p. 4949-4955, 2014.

GERAERT, P. A.; PADILHA, J. C. F.; GUILLAUMIN, Solange. Metabolic and endocrine changes induced by chronic heatexposure in broiler chickens: biological and endocrinological variables. **British Journal of Nutrition**, v. 75, n. 2, p. 205-216, 1996.

GODYN, Dorota; HERBUT, Eugeniusz; WALCZAK, Jacek. Infrared Thermography as a Method for Evaluating the Welfare of Animals Subjected to

Invasive Procedures—A Review/Termografia jako metoda oceny dobrostanu zwierząt poddanych inwazyjnym zabiegom—artykuł przeglądowy. **Annals of Animal Science**, v. 13, n. 3, p. 423-434, 2013.

GODYN, Dorota; HERBUT, Piotr; ANGRECKA, Sabina. Measurements of peripheral and deep body temperature in cattle—A review. **Journal of Thermal Biology**, v. 79, p. 42-49, 2019.

GONZÁLEZ, Félix; SILVA, Sérgio. Minerais e vitaminas no metabolismo animal. **Faculdade de veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Brasil**, 2019.

GUEDES, Gabriela de Moraes Rêgo. **Efeitos da desnutrição protéica crônica sobre o córtex cerebral e evolução ponderal de ratos adultos**. 2009. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

GUIMARÃES, Tiago Pereira. Exigências Proteicas para bovinos de corte. **Multi-Science Journal**, v. 1, n. 1, p. 90-99, 2015.

GUIMARÃES, Tiago Pereira. Exigências Proteicas para bovinos de corte. **Multi-Science Journal**, v. 1, n. 1, p. 90-99, 2015.

HACKBART, Katherine S. et al. Effects of propylene glycol or elevated luteinizing hormone during follicle development on ovulation, fertilization, and early embryo development. **Biology of Reproduction**, v. 97, n. 4, p. 550-563, 2017.

HAMMOND, A. C. et al. Heat tolerance in Tuli-, Senepol-, and Brahman-sired F1 Angus heifers in Florida. **Journal of animal science**, v. 76, n. 6, p. 1568-1577, 1998.

HANSEN, P. J. et al. Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. **Theriogenology**, v. 55, n. 1, p. 91-103, 2001.

HANSEN, Peter James. Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Animal reproduction science*, v. 82, p. 349-360, 2004.

HARDY, James D. Physiology of temperature regulation. **Physiological reviews**, v. 41, n. 3, p. 521-606, 1961.

HASEK, Barbara E. et al. Dietary methionine restriction enhances metabolic flexibility and increases uncoupled respiration in both fed and fasted states. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 299, n. 3, p. R728-R739, 2010.

HRISTOV, Alexander N.; GIALLONGO, Fabio. Feeding low protein diets to dairy cows. **Department of Animal Science, the Pennsylvania State University**, 2014.

IMURA, M. D.K.; OKADA, M. D.A Amino acid metabolism in pediatric patients. **Nutrition**, v. 14, n. 1, p. 143-148, 1998.

JAFARI, A. et al. Parenteral administration of glutamine modulates acute phase response in postparturient dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 12, p. 4660-4668, 2006.

JÚNIOR, Dourival Tavares Sousa; VERDE, Thiago Ferreira Cândido Lima; LANDIM, Liejy Agnes Santos Raposo. Alimentos ricos em triptofano e seu efeito na liberação da serotonina e possíveis benefícios no transtorno de ansiedade. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e471101422190-e471101422190, 2021.

KALHAN, Satish C.; IBEN, Sabine. PROTEIN METABOLISM IN THE EXTREMELY LOW-BIRTH WEIGHT INFANT. **Clinics in perinatology**, v. 27, n. 1, p. 23-56, 2000.

KARAMI-SHABANKAREH, H. et al. Effects of Feeding Dry Glycerol to Primiparous Holstein Dairy Cows on Follicular Development, Reproductive Performance and Metabolic Parameters Related to Fertility during the Early Post-partum Period. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 48, n. 6, p. 945-953, 2013.

KAWASHIMA, Chiho et al. Relationship between metabolic hormones and ovulation of dominant follicle during the first follicular wave post-partum in high-producing dairy cows. **Reproduction**, v. 133, n. 1, p. 155-163, 2007.

KENNEDY, Victoria C. et al. Late gestation supplementation of corn dried distiller's grains plus solubles to beef cows fed a low-quality forage: III. Effects on mammary gland blood flow, colostrum and milk production, and calf body weights. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 8, p. 3337-3347, 2019.

KEY, Nigel; SNEERINGER, Stacy. Potential effects of climate change on the productivity of US dairies. **American Journal of Agricultural Economics**, v. 96, n. 4, p. 1136-1156, 2014.

KOENEN, E. P. C.; GROEN, A. F.; GENGLER, Nicolas. Phenotypic variation in live weight and live-weight changes of lactating Holstein-Friesian cows. **Animal Science**, v. 68, n. 1, p. 109-114, 1999.

KOMIYAMA, Makoto et al. Artificial restriction DNA cutter for site-selective scission of double-stranded DNA with tunable scission site and specificity. **Nature Protocols**, v. 3, n. 4, p. 655-662, 2008.

KOZLOSKI, Gilberto Vilmar. **Bioquímica dos ruminantes**. Fundação de Apoio a Tecnologia e Ciencia-Editora UFSM, 2017.

LEHNINGER, A.L. **Princípios da bioquímica**. São Paulo: Sarvier, Seventh Edition 2018. 1312p.

LI, Peng et al. Amino acids and immune function. **British Journal of Nutrition**, v. 98, n. 2, p. 237-252, 2007.

LIPPKE, H. Digestibility and volatile fatty acids in steers and wethers at 21 and 32 C ambient temperature. **Journal of Dairy Science**, v. 58, n. 12, p. 1860-1864, 1975.

LIU, Jiangjing et al. Effects of heat stress on body temperature, milk production, and reproduction in dairy cows: A novel idea for monitoring and evaluation of heat stress—A review. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 32, n. 9, p. 1332, 2019.

LOOR, Juan J. et al. Physiological impact of amino acids during heat stress in ruminants. **Animal Frontiers**, v. 13, n. 5, p. 69-80, 2023.

LORENZETI, Fábio Medici; JÚNIOR, Luiz Carlos Carnevali; ZANUTO, Ricardo. **Nutrição e suplementação esportiva: aspectos metabólicos, fitoterápicos e da nutrigenômica**. Phorte Editora LTDA, 2011.

MA, Ning et al. Effects of dietary N-carbamylglutamate supplementation on milk production performance, nutrient digestibility and blood metabolomics of lactating Holstein cows under heat stress. **Animal Feed Science and Technology**, v. 273, p. 114797, 2021.

MADER, Terry L. et al. Shade and wind barrier effects on summertime feedlot cattle performance. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 8, p. 2065-2072, 1999.

MALACCO, V. M. R. et al. Effects of increased doses of lysine in a rumen-protected form on plasma amino acid concentration and lactational performance of dairy cows fed a lysine-deficient diet. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 4, p. 3064-3077, 2022.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 34, n. 3-4, p. 269-274, 1999.

MARTELLO, Luciane Silva et al. Respostas fisiológicas e produtivas de vacas holandesas em lactação submetidas a diferentes ambientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 181-191, 2004.

MARTINS, Renata Aparecida; DE ALMEIDA ASSUNÇÃO, Andrey Sávio. Importância dos aminoácidos na nutrição de frangos de corte. Revisão de Literatura. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 12, n. 4, p. 539-554, 2018.

MATIAS, Ana Elisa Barreto. **Fundamentos da bioquímica: proteínas**. 2022.

MCNURLAN, Margaret A.; GARLICK, Peter J. Protein and amino acids in nutritional support. **Critical care clinics**, v. 11, n. 3, p. 635-650, 1995.

MITLÖHNER, F. M. et al. Shade and water misting effects on behavior, physiology, performance, and carcass traits of heat-stressed feedlot cattle. **Journal of animal science**, v. 79, n. 9, p. 2327-2335, 2001.

MIZUBUTI, Ivone Yurika et al. Performance and carcass traits of Nelore cattle fattening on pasture receiving different zinc contents in the mineral supplementation. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 3, p. 1351-1363, 2018.

MOISÁ, Sonia J. et al. PSXIV-4 Fetal programming effect of rumen-protected methionine on Angus-Simental heifer offspring's performance and adipogenesis, oxidative stress and DNA methylation gene expression regulation. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. Suppl 3, p. 307, 2019.

MONTENEGRO JR, Renan; CHAVES, Mariana; FERNANDES, Virginia. **Fisiologia pancreática: Pâncreas endócrino**. 2016.

MORIEL, Philipe et al. Maternal supplementation of energy and protein, but not methionine hydroxy analog, enhanced postnatal growth and response to vaccination in *Bos indicus*-influenced beef offspring. **Journal of Animal Science**, v. 98, n. 5, p. skaa123, 2020.

NASIRI, A. H. et al. Effects of live yeast dietary supplementation on hormonal profile, ovarian follicular dynamics, and reproductive performance in dairy cows exposed to high ambient temperature. **Theriogenology**, v. 122, p. 41-46, 2018.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.rev.ed. Washinton, D.C.: 2001. 381p.

National Research Council. Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition. **National Academy of Sciences**, 28-85, 283-310. 2001.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Artmed Editora, 2022.

NEMATI, M. et al. Effect of protected-glutamine supplementation on performance, milk composition and some blood metabolites in fresh Holstein cows. **Iranian Journal of Veterinary Research**, v. 19, n. 3, p. 225, 2018.

OLIVEIRA, Paulo Garcez de. **Uso de produtos gliconeogênicos no pré e pós-parto sobre parâmetros produtivos, reprodutivos e sanguíneo de vacas holandesas**. 2002. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

OSORIO, J. S. et al. Biomarkers of inflammation, metabolism, and oxidative stress in blood, liver, and milk reveal a better immunometabolic status in periparturient cows supplemented with Smartamine M or MetaSmart. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 12, p. 7437-7450, 2014.

PALMER, Elizabeth A. et al. Maternal supplement type and methionine hydroxy analogue fortification effects on performance of *Bos indicus*-influenced beef cows and their offspring. **Livestock Science**, v. 240, p. 104176, 2020.

PARDO, Fernando Lamarca. **Suplementação proteica e treinamento resistido no pós-operatório tardio de cirurgia bariátrica: efeito no gasto energético basal e composição corporal**. 2019.

PAUWELS, E. K.; ERBA, Paola A.; KOSTKIEWICZ, Magdalena. Antioxidants: a tale of two stories. **Drug news & perspectives**, v. 20, n. 9, p. 579-585, 2007.

PELISSARI, Paulo Henrique. **Avaliação da suplementação de um melhorador da saúde intestinal na dieta de porcas e de leitões**. 2020. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

PEREIRA, Alfredo Manuel Franco; TITTO, Evaldo Antonio Lencioni; DE ALMEIDA, José Antunes Afonso. **Adaptação dos ruminantes aos climas quentes**. Editora Appris, 2020.

PEREIRA, Benedito. Radicais livres de oxigênio e sua importância para a funcionalidade imunológica. **Motriz. Journal of Physical Education. UNESP**, p. 71-79, 1996.

PEREIRA, Claudia Cristina Alves. **Influência de dieta enteral suplementada com arginina e antioxidantes sobre a cicatrização cutânea experimental**. 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

PERRY, G. A.; PERRY, B. L. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 34, n. 3, p. 333-338, 2008.

PFEIFER, L. F. M. et al. Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. **Theriogenology**, v. 72, n. 9, p. 1237-1250, 2009.

PINTO, Severino et al. Critical THI thresholds based on the physiological parameters of lactating dairy cows. **Journal of Thermal Biology**, v. 88, p. 102523, 2020.

PIRES, Bianca Vilela et al. Meta-analysis and meta-regression of core body temperature in taurine and zebuine cattle under different environmental conditions. **Livestock Science**, v. 265, p. 105104, 2022.

PIRES, J. A. A.; SOUZA, A. H.; GRUMMER, R. R. Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 6, p. 2735-2744, 2007.

RAVAGNOLO, O.; MISZTAL, I.; HOOGENBOOM, G. Genetic component of heat stress in dairy cattle, development of heat index function. **Journal of dairy science**, v. 83, n. 9, p. 2120-2125, 2000.

REDIFER, Colby A. et al. Evaluation of peripartum supplementation of methionine hydroxy analogue on beef cow–calf performance. **Translational Animal Science**, v. 7, n. 1, p. txad046, 2023.

REES, Geraint; KREIMAN, Gabriel; KOCH, Christof. Neural correlates of consciousness in humans. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 3, n. 4, p. 261-270, 2002.

REIS, Guilherme CL et al. In vitro digestion of spermidine and amino acids in fresh and processed *Agaricus bisporus* mushroom. **Food Research International**, v. 137, p. 109616, 2020.

RENAUDEAU, David; NOBLET, Jean. Effects of exposure to high ambient temperature and dietary protein level on sow milk production and performance of piglets. **Journal of animal science**, v. 79, n. 6, p. 1540-1548, 2001.

RENNIE, Michael J. Nutritional and pathophysiological modulation of body protein. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 1, n. 1, p. 67-71, 1998.

RENNÓ, F. P. et al. Effects of body condition at calving on milk yield and composition, lactation curve and body reserve mobilization of Holstein cows. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 220-233, 2006.

RHOADS, M. L. Reproductive consequences of whole-body adaptations of dairy cattle to heat stress. **animal**, v. 17, p. 100847, 2023.

RHOADS, Robert P. et al. Nutritional interventions to alleviate the negative consequences of heat stress. **Advances in nutrition**, v. 4, n. 3, p. 267-276, 2013.

RICHARDSON, C. R.; HATFIELD, E. E. The limiting amino acids in growing cattle. **Journal of Animal Science**, v. 46, n. 3, p. 740-745, 1978.

RICHTER, Klaus; HASLBECK, Martin; BUCHNER, Johannes. The heat shock response: life on the verge of death. **Molecular cell**, v. 40, n. 2, p. 253-266, 2010.

RIGON, Fernanda et al. Use of Heating Methods and Xylose to Increase Rumen Undegradable Protein of Alternative Protein Sources: 1) Peanut Meal. **Animals**, v. 13, n. 1, p. 23, 2022.

ROCHA, David Ramos et al. Impacto do estresse térmico na reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 36, n. 1, p. 18-24, 2012.

ROCHA, David Ramos et al. Impacto do estresse térmico na reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 36, n. 1, p. 18-24, 2012.

RODRIGUES, C. Imunologia básica: Uma revisão aplicada a. **Annual Review Of Immunology**, v. 30, p. 459-489, 2012.

ROMERO, Marta Adriana Bustos. **Princípios bioclimáticos para o desenho urbano**. SciELO-Editora UnB, 2013.

ROTH, Z. et al. Improvement of quality of oocytes collected in the autumn by enhanced removal of impaired follicles from previously heat-stressed cows. **REPRODUCTION-CAMBRIDGE-**, v. 122, n. 5, p. 737-744, 2001.

ROTH, Zvi. Stress-induced alterations in oocyte transcripts are further expressed in the developing blastocyst. **Molecular Reproduction and Development**, v. 85, n. 11, p. 821-835, 2018.

SAEED, Osama A. Effects of heat stress on ruminant physiological changes in dry arid regions: a review. **Large Animal Review**, v. 29, n. 6, p. 271-278, 2023.

SALAZAR, Diego Reynaga; CORTINHAS, Cristina Simões; JR, José Esler Freitas. Sincronismo energia-proteína: assimilação de nitrogênio e síntese de proteína microbiana em ruminantes. **Pubvet, Universidade de São Paulo**, 2008.

SALEM, H. Ben; SMITH, T. Feeding strategies to increase small ruminant production in dry environments. **Small ruminant research**, v. 77, n. 2-3, p. 174-194, 2008.

SAMPAIO, Alexandre Amstalden Moraes et al. Efeito da suplementação sobre a digestibilidade dos nutrientes e desempenho de bezerros lactentes mantidos em pastagens de *Brachiaria brizantha*. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 32, n. 1, p. 63-68, 2010.

SARTORI, Roberto; SPIES, Camila; WILTBANK, Milo C. Effects of dry matter and energy intake on quality of oocytes and embryos in ruminants. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 29, n. 1, p. 58-65, 2017.

SATYANARAYANA, U. **Metabolism of amino acids**. Elsevier Health Sciences, 2014.

SAYEG, Mariana Dulce Delle Vedove Ortolan. **Uso de dispositivo monitor de atividade como preditor de estro em vacas de leite**. 2020. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SCARPELLINI, Carolina da Silveira. **Efeito da associação entre a hipóxia e a fase do dia sobre a temperatura corporal em ratos**. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

SCHÜLLER, L. K.; MICHAELIS, I.; HEUWIESER, W. Impact of heat stress on estrus expression and follicle size in estrus under field conditions in dairy cows. **Theriogenology**, v. 102, p. 48-53, 2017.

SCHUTZ, Yves. Protein turnover, ureagenesis and gluconeogenesis. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, v. 81, n. 2, p. 101, 2011.

SELHUB, Jacob. Homocysteine metabolism. **Annual review of nutrition**, v. 19, n. 1, p. 217-246, 1999.

SILVA, Adriana Lima. **Avaliação do volumoso extrusado contendo diferentes fontes de proteína para ovinos**. 2023.

ST-PIERRE, Normand R.; COBANOV, B.; SCHNITKEY, Gary. Economic losses from heat stress by US livestock industries. **Journal of dairy science**, v. 86, p. E52-E77, 2003.

STRYER, L. **Bioquímica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1996.

SZYF, Moshe. The early life social environment and DNA methylation: DNA methylation mediating the long-term impact of social environments early in life. **Epigenetics**, v. 6, n. 8, p. 971-978, 2011.

TEIXEIRA, Ilka Nicéia D.; GUARIENTO, Maria Elena. Biologia do envelhecimento: teorias, mecanismos e perspectivas. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, p. 2845-2857, 2010.

TESSERAUD, Sophie et al. Role of sulfur amino acids in controlling nutrient metabolism and cell functions: implications for nutrition. **British Journal of Nutrition**, v. 101, n. 8, p. 1132-1139, 2008.

THORNTON, Philip et al. Impacts of heat stress on global cattle production during the 21st century: a modelling study. **The Lancet Planetary Health**, v. 6, n. 3, p. e192-e201, 2022.

TIRAPÉGUI, Julio; ROGERO, Marcelo Macedo. Metabolismo de proteínas. **Fisiologia da nutrição humana. Aspectos básicos, aplicados e funcionais**, p. 69-109, 2007.

TUME, Lyvonne N. et al. Nutritional support for children during critical illness: European Society of Pediatric and Neonatal Intensive Care (ESPNIC) metabolism, endocrine and nutrition section position statement and clinical recommendations. **Intensive care medicine**, v. 46, p. 411-425, 2020.

VAN SOEST, PJ van; ROBERTSON, JAMES B.; LEWIS, BETTY A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of dairy science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

VASCONCELOS, J. L. M. et al. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v. 56, n. 2, p. 307-314, 2001.

VIEIRA, Ricardo. **Fundamentos de bioquímica**. Edição eletrônica. Belém, Pará, 2003.

VOET, D.; VOET, J.G.; PRATT, C.W. **Fundamentos de bioquímica**. Porto Alegre: ArtMed, 2000.

VOET, Donald; VOET, Judith G.; PRATT, Charlotte W. **Fundamentos de Bioquímica-: A Vida em Nível Molecular**. Artmed Editora, 2014.

VRISMAN, Dayane Priscila. Influência da dieta aminoacídica na composição do leite: Revisão de literatura. **Nucleus Animalium**, v. 5, n. 2, p. 3, 2013.

WILSON, S. J. et al. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 8, p. 2124-2131, 1998.

WOLFENSON, D.; ROTH, Z.; MEIDAN, R. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. **Animal reproduction science**, v. 60, p. 535-547, 2000.

ZACHUT, M.; MOALLEM, U. Consistent magnitude of postpartum body weight loss within cows across lactations and the relation to reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 4, p. 3143-3154, 2017.

ZHOU, M. et al. Effects of increasing air temperature on physiological and productive responses of dairy cows at different relative humidity and air velocity levels. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 2, p. 1701-1716, 2022.

ZHOU, Z. et al. Rumen-protected methionine compared with rumen-protected choline improves immunometabolic status in dairy cows during the peripartal period. **Journal of dairy science**, v. 99, n. 11, p. 8956-8969, 2016.