

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Resposta imune humoral e desempenho produtivo em novilhas de corte
suplementadas com sal mineral e metionina protegida da degradação ruminal**

Matheus Gomes Lopes

Pelotas, 2018

Matheus Gomes Lopes

Resposta imune humoral e desempenho produtivo em novilhas de corte suplementadas com sal mineral e metionina protegida da degradação ruminal

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Prof. Dr. Geferson Fischer
Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Schmitt

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

L111r Lopes, Matheus Gomes

Resposta imune humoral e desempenho produtivo em novilhas de corte suplementadas com sal mineral e metionina protegida da degradação ruminal / Matheus Gomes Lopes ; Geferson Fischer, orientador ; Eduardo Schmitt, coorientador. — Pelotas, 2018.

73 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Aminoácidos. 2. Bioma pampa. 3. Mineralização. 4. Proteína. I. Fischer, Geferson, orient. II. Schmitt, Eduardo, coorient. III. Título.

CDD : 636.2

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Matheus Gomes Lopes

Resposta imune humoral e desempenho produtivo em novilhas de corte suplementadas com sal mineral e metionina protegida da degradação ruminal

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 22 de fevereiro de 2018

Banca examinadora:

Prof. Dr. Geferson Fischer (Orientador)
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Marcelo de Lima
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Rogério Fôlha Bermudes
Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr. Tony Picoli
Doutor em Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

Aos meus pais, pelo exemplo de seres humanos e profissionais, pela dedicação durante a construção da minha educação e por, muitas vezes, abrirem mão de sonhos e oportunidades pessoais, para proporcionar o melhor a mim. Apesar das distâncias, nos mantivemos unidos durante todos estes anos longe de casa, em busca de um objetivo em comum: nosso crescimento profissional.

Aos meus avós, pelo carinho incondicional transmitido.

Aos meus tios e padrinhos, que completam a base da nossa família, pelos momentos que se dedicaram a contribuir para a minha educação.

Aos amigos e colegas, pela parceria e amizade em qualquer situação.

Aos professores, pelos ensinamentos transmitidos, em especial ao meu orientador Prof. Dr. Geferson Fischer, por dedicar parte do seu tempo a transmitir seus conhecimentos, pelas conversas e orientações durante a pós-graduação. Ao coorientador Prof. Dr. Eduardo Schmitt, por acreditar em meu trabalho e fornecer o apoio necessário para elaboração das atividades propostas e ao Prof. Dr. Marcio Nunes Corrêa, pelos ensinamentos e oportunidades proporcionadas desde a graduação.

Muito obrigado!

Resumo

LOPES, Matheus Gomes. **Resposta imune humoral e desempenho produtivo em novilhas de corte suplementadas com sal mineral e metionina protegida da degradação ruminal.** 2018. 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

O conhecimento gerado sobre os principais ingredientes utilizados em dietas para bovinos possibilitou maior assertividade nas formulações. Dentre estes ingredientes, os aminoácidos se destacam como uma ferramenta capaz de levar à redução nos níveis totais de proteína bruta e ajustar as concentrações ideais de proteína metabolizável nas dietas. Uma revisão de trabalhos realizados na atualidade em bovinos suplementados com metionina protegida da degradação ruminal, demonstrou as influências desta estratégia em parâmetros reprodutivos, resposta imune e desempenho produtivo. Em um segundo momento, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de uma suplementação com sal mineral enriquecido com metionina protegida frente ao desempenho produtivo e resposta imune humoral em novilhas de corte. Quarenta e oito novilhas nulíparas, raça Brangus, foram distribuídas em quatro grupos experimentais com três repetições cada: Grupo Controle sem suplemento e sem vacinação (GC01), Grupo Controle sem suplemento e com vacinação (GC02), Grupo Tratamento com suplemento mineral e com vacinação (GT01) e Grupo Tratamento com suplemento mineral adicionada de metionina protegida e com vacinação (GT02). Os animais foram mantidos em pastagem nativa. Um período de suplementação prévio às vacinações de 60 dias foi adotado até a aplicação da primeira dose de uma vacina monovalente inativada para BoHV-5, como método de estímulo da resposta imune para avaliar os efeitos da suplementação. Após 21 dias, foram realizadas coletas de soro para mensurar a resposta humoral e aplicada a segunda dose, com o intervalo de 21 dias para novas coletas de soro. Os animais foram pesados nos dias -60, -10, 0, 21 e 42 em relação ao protocolo vacinal. Os grupos não diferiram quanto ao peso corporal, GMD e ECC. Quando os animais vacinados foram comparados ao GC01, níveis superiores de anticorpos neutralizantes foram observados 21 dias após a segunda dose vacinal. Na comparação entre os grupos suplementados, não houve diferença nas soroconversões frente ao BoHV. Os níveis de IgG foram superiores ao GC01, 21 dias após a segunda dose vacinal, porém não diferiram entre os grupos suplementados. Desta forma, o estudo conclui que não houveram benefícios da suplementação mineral ou enriquecida com metionina protegida frente ao desempenho produtivo e a resposta imune humoral dos animais estudados.

Palavras-chave: aminoácidos; bioma pampa; mineralização; proteína

Abstract

LOPES, Matheus Gomes. **Humoral immune response and productive performance in beef heifers supplemented with mineral and rumen-protected methionine.** 2018. 73f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2018.

The knowledge generated on the main ingredients used in bovine diets allowed greater assertiveness in the formulations. Among these ingredients, the amino acids stand out as a tool capable of reducing the total levels of crude protein and adjusting the ideal concentrations of metabolizable protein in the diets. A review of current studies on cattle supplemented with rumen-protected methionine has demonstrated the influence of this strategy on reproductive parameters, immune response and productive performance. The objective of this study was to evaluate the effects of a methionine enriched mineral salt supplementation against productive performance and humoral immune response in beef heifers. Forty-Eight Brangus nulliparous heifers were divided into four experimental groups with three replicates each: Control Group without supplementation and without vaccination (GC01), Control Group without supplementation and with vaccination (GC02), Group Treatment with mineral supplementation and with vaccination (GT01) and Group Treatment with mineral supplementation of protected methionine and with vaccination (GT02). The animals were kept in native pasture. A supplementation period prior to 60-day vaccinations was adopted until the first dose of a monovalent vaccine inactivated for BoHV-5 was used as a method of stimulating the immune response to evaluate the effects of supplementation. After 21 days, serum samples were collected to measure the humoral response and the second dose was applied, with the interval of 21 days for new serum collections. The animals were weighed on days -60, -10, 0, 21 and 42 in relation to the vaccine protocol. The groups did not differ in body weight, DAG and ECC. When vaccinated animals were compared to GC01, higher levels of neutralizing antibodies were observed 21 days after the second vaccine dose. In the comparison between the supplemented groups, there was no difference in the seroconversions against BoHV. IgG levels were higher than GC01, 21 days after the second vaccine dose, but did not differ between the supplemented groups. Thus, the study concludes that there were no benefits of mineral supplementation or enriched with methionine protected against the productive performance and the humoral immune response of the animals studied.

Keywords: amino acids; biome pampa; mineralization; protein

Lista de Figuras

Figura 1	Precipitação e temperaturas semanais média durante o período de 29 de novembro de 2016 a 14 de março de 2017 na estação experimental.....	44
Figura 2	Evolução do peso vivo nos diferentes grupos durante o período experimental.....	52
Figura 3	Título de anticorpos neutralizantes nos dias 0, 21 e 42, em relação ao protocolo vacinal, nos diferentes grupos avaliados.....	52
Figura 4	Absorbância média nos dias 0, 21 e 42, em relação ao protocolo vacinal, nos diferentes grupos avaliados, através de Elisa Indireto para detecção de Imunoglobulinas (IgG) frente à BoHV-5 gD.....	54

Lista de Tabelas

Tabela 1	Composição e ingredientes das dietas nos diferentes grupos experimentais.....	46
Tabela 2	Valores de cinzas bruta (CB), extrato etéreo (EE), Proteína Bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) na porcentagem de matéria seca (MS), nos três momentos de coletas de pastagem, dias -60, 0 e 42 em relação ao protocolo vacinal.....	50
Tabela 3	Peso vivo, GMD e ECC médios ao final do experimento, de acordo com o grupo experimental.....	50
Tabela 4	Distribuição percentual acumulada de títulos de anticorpos neutralizantes nos dias 21 e 42, em relação ao protocolo vacinal, nos diferentes grupos avaliados.....	53

Lista de Abreviaturas e Siglas

BoHV-5	Herpesvírus bovino tipo 5
BoHV-5 gD	Glicoproteína D presente no envelope do herpesvírus bovino tipo 5
ECC	Escore de Condição Corporal
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
GMD	Ganho Médio Diário
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IgG	Imunoglobulina G
mRNA	Ácido Ribonucleico mensageiro
MS	Matéria Seca
PV	Peso Vivo
SOD	Superóxido Dismutase
USDA	United States Department of Agriculture

Lista de Símbolos

%	Porcentagem
Co	Cobalto
Cr	Cromo
Cu	Cobre
mg kg ⁻¹	Miligramas por Quilogramas
Mn	Manganês
Se	Selênio
Zn	Zinco

Sumário

1 Introdução	11
2 Objetivos	15
2.1 Objetivo Geral	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3 Artigos	16
3.1 Artigo 1	16
3.2 Artigo 2	40
4 Considerações Finais	61
Referências	62
Anexo	72

1 Introdução

A rápida expansão populacional e o consequente aumento na demanda por alimentos, associados a escassez de recursos hídricos e fundiários, levaram a um cenário de incertezas quanto ao suprimento de alimentos para a população mundial dentro das próximas décadas. De acordo com a *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO), nos próximos quarenta anos, a população mundial tende a um crescimento de 30%, gerando a necessidade de um incremento na produção anual de carne próximo a 200 milhões de toneladas (FAO, 2017).

A carne vermelha, de origem bovina, contribui significativamente para a ingestão de proteínas com alto valor biológico, energia e micronutrientes importantes para a saúde humana (BINNIE et al., 2014). Dados do *United States Department of Agriculture* (USDA) apontam uma produção global de carne bovina próxima a 62 milhões de toneladas em 2017. Com aproximadamente 15% desta produção, o Brasil detém o posto de segundo maior produtor de carne bovina no mundo com 9,28 milhões de toneladas, ficando atrás apenas dos EUA com 11,38 milhões de toneladas (USDA, 2017).

Em um momento de crescente expansão nas atividades agrícolas, impulsionado pelo mercado de *commodities*, as áreas destinadas a produção pecuária vem sofrendo constantes adaptações. Apesar da grande perda de espaço, o rebanho comercial brasileiro segue em permanente evolução, tornando necessário o incremento de novas estratégias e tecnologias que permitam aumento de produtividade aliado a sustentabilidade das atividades.

A maior parte da bovinocultura de corte brasileira é desenvolvida em uma grande diversidade de solos e ampla variabilidade climática, incluindo diferentes tipos e áreas de transição, com marcadas variações sazonais, exemplificadas nas regiões subtropicais do sul brasileiro. O estado do Rio Grande do Sul e suas fronteiras com Uruguai e Argentina, possui um dos seis biomas brasileiros denominado Bioma Pampa (LOBATO et al., 2014). Neste ambiente, em uma área superior a 60% do território estadual, as pastagens nativas se faziam presentes incluindo mais de 200 espécies de leguminosas e 800 espécies de gramíneas, com

grande potencial produtivo e alta biodiversidade (GROSSMAN et al., 1965). A partir da década de 70, a expansão da agricultura proporcionou uma modificação drástica na proporção de áreas ainda preservadas de campos nativos, com redução para níveis inferiores a 40% da área territorial (IBGE, 2004).

A produtividade no estado também apresenta uma alta variabilidade, enquanto existem extremos de produção extensiva com a utilização de baixa tecnologia e índices produtivos insatisfatórios, alguns grupos seletos de produtores desenvolvem uma agropecuária intensiva utilizando melhoramento genético, controle sanitário, gestão empresarial e manejo inteligente de forragens, alcançando resultados expressivos com eficiência e rentabilidade (ROSADO JÚNIOR; LOBATO, 2010).

Dentro desta pecuária, com adição de alta tecnologia, estratégias nutricionais estão presentes contribuindo significativamente para a obtenção de resultados satisfatórios. São nestes locais que, suplementações estratégicas, com a utilização de mineralização ou incremento de aporte proteico em momentos cruciais do desenvolvimento de determinadas categorias, abrem uma série de oportunidades e conduzem ao maior aproveitamento das pastagens.

Os minerais são nutrientes essenciais que devem estar presentes nas dietas para ruminantes em apresentação e quantidades específicas, pois na sua grande maioria, não podem ser totalmente sintetizados pelo organismo (MATTIOLI et al., 2013). As classificações para estes minerais estão dispostas pelos seus níveis de requerimentos diários, em macrominerais, com necessidades diárias superiores a 100 mg kg⁻¹ de matéria seca (MS) e microminerais com exigências diárias inferiores a 100 mg kg⁻¹ de MS (McDOWELL, 1992).

Alguns microminerais como Zinco (Zn), Cobre (Cu), Manganês (Mn), Cobalto (Co), Cromo (Cr) e Selênio (Se) atuam como componentes fundamentais na ação de enzimas antioxidantes, desempenhando funções-chaves nas relações entre as respostas imunes e o metabolismo energético em bovinos (OVERTON; YASUI, 2014). O Zn e o Cu, por exemplo, são componentes da enzima superóxido dismutase (SOD), principal responsável por eliminar radicais livres e peróxidos produzidos após respostas mediadas por células do sistema imunológico (SAKER, 2006; SHARMA et al., 2005). O Zn atua em situações de proliferação, diferenciação e apoptose, marcados como processos cruciais em células imunes (HAASE et al., 2006). Dietas deficientes em Cu propiciam a diminuição na função de células

polimorfonucleares, macrófagos e linfócitos T (WINTERGERST et al., 2007). O Mn é integrante de enzimas relacionadas ao metabolismo de lipídeos, metabolismo oxidativo e ao sistema imune (ANDRIEU, 2008). Já o Co é componente de vitaminas do complexo B, como a vitamina B12, importante na regulação enzimática da gliconeogênese (OVERTON; YASUI, 2014). Em resumo, os minerais participam em uma ampla variedade de processos biológicos que envolvem mecanismos regulatórios como a expressão gênica e a diferenciação celular, regulam reações enzimáticas como cofatores ou parte integrante de fatores coenzimáticos e ainda podem atuar como agentes antioxidantes (McDOWELL, 2000).

Outra alternativa de suplementação crescente no setor agropecuário, são os aminoácidos essenciais e limitantes para determinadas categorias. Atualmente, com o conhecimento dos requerimentos mínimos de aminoácidos para vacas leiteiras e sua inclusão em programas de formulações de dietas, uma série de produtos à base de aminoácidos protegidos da degradação ruminal foram disponibilizados no mercado (ZANG et al., 2017). Dentro deste perfil de aminoácidos elaborado, lisina e metionina são os mais limitantes para vacas produtoras de leite e um avanço constante em pesquisas no setor leiteiro durante as duas últimas décadas, comprovaram os benefícios da suplementação de metionina na sua forma protegida frente a índices produtivos, reprodutivos e na resposta imune (OSÓRIO et al., 2013; ACOSTA et al., 2016; JACOMETO et al., 2016).

A metionina é o único aminoácido que possui uma função específica em processos de transcrição de mRNA, através da doação de grupamentos metil que atuam como precursores de componentes como membranas celulares e, ainda, de outros aminoácidos sulfurados precursores de substâncias antioxidantes (METAYER et al., 2008). Estas informações consolidaram as hipóteses de uma série de trabalhos conduzidos em vacas leiteiras nas duas últimas décadas, porém apenas neste último ano pesquisadores retomaram os experimentos em bovinos de corte (CLEMENTS et al., 2017).

Nas análises frente aos benefícios da suplementação de metionina na resposta imune, os resultados em vacas leiteiras apontam um incremento principalmente em imunidade inata, porém pouco se estudou as possíveis associações com a imunidade adaptativa com consequente respostas frente a imunidade celular e humoral (OSÓRIO et al., 2014; VAILATI-RIBONI et al., 2017; ZHOU et al., 2016a).

O objetivo desta dissertação foi avaliar os efeitos de uma suplementação estratégica através de suplemento mineral enriquecido com metionina protegida da degradação ruminal perante ao desempenho produtivo e a resposta imune humoral em novilhas de corte.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a resposta imune humoral e o desempenho produtivo em novilhas de corte suplementadas com sal mineral e metionina protegida da degradação ruminal.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito da suplementação sobre o peso vivo (PV), ganho de peso vivo médio diário (GMD) e escore de condição corporal (ECC).
- Avaliar a produção de anticorpos neutralizantes específicos em novilhas de corte vacinadas com vacina monovalente inativada para o herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5).
- Avaliar a produção de imunoglobulinas (IgG) frente a glicoproteína D do herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5 gD).

3 Artigos

3.1 Artigo 1

**Utilização de metionina protegida da degradação ruminal em bovinos:
influências na reprodução, resposta imune e desempenho produtivo**

**Matheus Gomes Lopes, José Henrique Echenique Dominguez, Marcio Nunes
Corrêa, Eduardo Schmitt e Geferson Fischer**

Submetido à revista Ciência Rural

1 **Utilização de metionina protegida da degradação ruminal em bovinos: influências na**
2 **reprodução, resposta imune e desempenho produtivo**

3 **Rumen-protected methionine in cattle: influences in reproduction, immune response**
4 **and productive performance**

5 **-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA-**

6
7 **RESUMO**

8 Atualmente as informações e conhecimento gerado sobre os principais ingredientes
9 utilizados em dietas para bovinos possibilitou maior assertividade nas formulações. Dentre
10 estes ingredientes, os aminoácidos se destacam como uma ferramenta promissora capaz de
11 levar à redução nos níveis totais de proteína bruta e ajustar as concentrações ideais de proteína
12 metabolizável nas dietas. Programas nutricionais permitem formular dietas por exigências de
13 aminoácidos, oportunizando o aumento na eficiência de utilização do nitrogênio dietético,
14 reduzindo dispêndios com concentrados ricos em proteína, com a manutenção, ou ainda,
15 incremento de desempenho. Esta revisão buscou apresentar as influências da metionina, em
16 sua formulação protegida da degradação ruminal, frente a parâmetros reprodutivos, resposta
17 imune e desempenho produtivo em bovinos. Os benefícios relacionados a reprodução se
18 mostram ligados aos primeiros dias de implantação embrionária no ambiente uterino que,
19 inicialmente secreta, através do histotrofo produzido por glândulas endometriais, os nutrientes
20 necessários para o desenvolvimento do concepto até a implantação e comunicação vascular
21 com a mãe. Perante a resposta imune, os principais resultados estão relacionados aos
22 benefícios na imunidade inata, com marcado aumento na capacidade fagocitária de neutrófilos
23 e monócitos, assim como um importante efeito antioxidante mediado por produtos originários
24 da metionina, como a glutatona. Por fim, quando avaliadas as influências em produtividade, a
25 correlação mais evidente é o incremento em proteína no leite de vacas suplementadas com

1 metionina. Já em bovinos de corte, ainda são escassos os estudos que comprovem os reais
2 benefícios desta suplementação estratégica, abrindo um caminho de oportunidades para o
3 desenvolvimento de novos projetos experimentais.

4 **Palavras-chave:** aminoácidos, antioxidantes, histotrofo, proteína.

5

6 **ABSTRACT**

7 Presently, the number of information and knowledge generated on the main ingredients that
8 are used in diets for cattle has allowed for greater assertiveness in the formulations. Among
9 these ingredients, the amino acids stand out as a promising tool capable of reducing the total
10 levels of crude protein and adjusting the ideal concentrations of metabolizable protein in the
11 diets. Nutritional programs allow the formulation of diets due to amino acid requirements,
12 increasing the efficiency of dietary nitrogen utilization, reducing expenditures with protein-
13 rich concentrates, maintaining or increasing performance. This review sought to present the
14 influences of methionine, in its formulation protected from ruminal degradation, against
15 reproductive parameters, immune response and productive performance in cattle. The benefits
16 related to reproduction are related to the first days of embryo implantation in the uterine
17 environment, who initially secretes through the histotroph produced by endometrial glands,
18 the nutrients necessary for the development of the concept until the implantation and vascular
19 communication with the mother. In view of the immune response, the main results are related
20 to the benefits of innate immunity, with a marked increase in the phagocytic capacity of
21 neutrophils and monocytes, as well as an important antioxidant effect mediated by products
22 originating from methionine, such as glutathione. Lastly, when evaluating the influences on
23 productivity, the most evident correlation is the increase in protein in the milk of cows
24 supplemented with methionine. In beef cattle, studies that prove the real benefits of this

1 strategic supplementation are still scarce, opening a path of opportunities for the development
2 of new experimental projects.

3 **Key words:** amino acids, antioxidants, histotroph, protein.

4

5 **INTRODUÇÃO**

6 A partir da atualização do *National Research Council* (NRC) no ano de 2001 e o
7 desenvolvimento do *Cornell Net Carbohydrate and Protein System* (CNCPS), as
8 metodologias para formulação e ajustes de dietas na bovinocultura foram renovadas (NRC,
9 2001). Nas últimas décadas, o avanço constante em pesquisas em uma área atualmente
10 denominada como nutrição de precisão, possibilitou o incremento de ferramentas e
11 tecnologias mais detalhadas para a distribuição e balanceamento dos nutrientes essenciais para
12 uma dieta eficiente. Dentre estes nutrientes, as proteínas são as macromoléculas mais
13 abundantes e versáteis quanto a funcionalidade nos seres vivos. Esta versatilidade proteica
14 está diretamente relacionada pelo número, classe e sequência de aminoácidos que compõem
15 suas unidades estruturais (GONZÁLEZ & SILVA, 2006).

16 Considerados os “blocos de construção” para as proteínas, os aminoácidos atuam
17 como precursores de diversas biomoléculas funcionais e estão envolvidos em processos
18 metabólicos como o desenvolvimento esquelético e muscular, desempenho produtivo e
19 reprodutivo, além de determinarem efeitos reguladores importantes nas respostas imunes
20 (PAUL & DEY, 2015; STOVER et al., 2017). A totalidade de proteínas conhecidas no
21 organismo está constituída a partir de vinte tipos diferentes de aminoácidos, agrupados através
22 de ligações peptídicas e denominados de aminoácidos proteicos. A capacidade de síntese
23 destas moléculas pelo organismo, confere uma importante classificação, comumente utilizada,
24 constituída em aminoácidos essenciais, os quais não são sintetizados e necessitam ser

1 incorporados na dieta, e aminoácidos não-essenciais, produzidos a partir de substratos
2 disponíveis (JACKSON, 1983).

3 Em bovinos, os componentes proteicos que chegam ao rúmen são rapidamente
4 degradados pela microbiota ruminal em peptídeos e aminoácidos que serão reutilizados para a
5 síntese de proteínas microbianas (REIS et al., 2016). A proteína microbiana sintetizada no
6 rúmen e as proteínas não degradáveis no rúmen, associadas com as proteínas endógenas,
7 contribuem para os requerimentos de proteína metabolizável (PM), necessários para a
8 manutenção, crescimento, reprodução e produção em bovinos (ZANG et al., 2017).

9 Atualmente, com o desenvolvimento de programas automatizados que incluam as
10 exigências de aminoácidos através do perfil destes nutrientes em vacas leiteiras, é possível a
11 formulação de dietas buscando maior eficiência na utilização de proteínas, maximizando o
12 rendimento e incrementando componentes do leite. Em contrapartida, poucos estudos foram
13 realizados em bovinos de corte. Considerar a exigência nutricional por aminoácidos é uma
14 estratégia que possibilita reduzir os níveis de proteína bruta (PB) na dieta, aumentando a
15 efetividade na relação entre nitrogênio secretado e nitrogênio consumido, com consequente
16 diminuição na perda ruminal de amônia, levando a redução de custos na dieta e menores
17 impactos ambientais gerados pelo rebanho (SCHWAB, 2010).

18 As pesquisas têm demonstrado a essencialidade e limitação de determinados
19 aminoácidos como a metionina em bovinos, e estratégias que permitem aumentar a
20 disponibilidade destes nutrientes pela proteção da degradação ruminal, estão sendo utilizadas
21 (WATERMAN et al., 2012). A metionina é considerada um aminoácido essencial alifático e
22 sulfurado atuando como precursora de carnitina, creatina, cisteína, homocisteína e succinil-
23 CoA. Além disso, atua no metabolismo lipídico e na ativação de enzimas antioxidantes, como
24 a metionina sulfóxido redutase A e na biossíntese de glutatona, importantes moléculas no
25 combate ao estresse oxidativo. Estudos atuais demonstram que a metionina pode regular

1 processos metabólicos, funcionamento digestivo, ambiente uterino e sistema imune em
2 mamíferos (MARTÍNEZ et al., 2017).

3 Os suplementos a base de metionina estão disponíveis em diferentes formulações,
4 porém, a utilização de aminoácidos livres de proteção em ruminantes se torna dispendiosa e
5 injustificada perante as interferências dos microrganismos ruminais. Já as formas de
6 metionina protegidas da degradação ruminal, formuladas principalmente através da utilização
7 de revestimentos físicos, com polímeros sensíveis ao pH e a compostos lipídicos, ou ainda,
8 formas análogas ligadas a grupos hidroxila ou isopropanol, se mostraram eficientes para
9 reduzir a necessidade do incremento de PB na dieta, aumentando eficiência na utilização de
10 nitrogênio em vacas leiteiras (CHEN et al., 2011). A suplementação de metionina em uma
11 formulação que impossibilite a degradação pela microbiota ruminal aumenta sua
12 biodisponibilidade (GRAULET et al., 2005), incrementando a entrada deste aminoácido no
13 ciclo metabólico de 1-carbono, local onde poderá ser convertida a S-adenosil-L-metionina
14 (SAM), molécula biológica de maior relevância em doação de grupamentos metil e essencial
15 para o mecanismo de metilação do DNA e regulação da expressão gênica (MARTINOV et al.,
16 2010). O objetivo desta revisão é abordar os principais estudos realizados na atualidade em
17 bovinos suplementados com metionina protegida da degradação ruminal, focando nas
18 influências proporcionadas em parâmetros reprodutivos, resposta imune e desempenho
19 produtivo.

20 Metionina e suas influências na reprodução

21 O período de reconhecimento materno da gestação em ruminantes é um momento
22 complexo e crucial para o desenvolvimento embrionário, relacionando mecanismos
23 endócrinos, autócrinos e parácrinos (ANTONIAZZI et al., 2011; NISWENDER et al., 2000).
24 Estes primeiros dias de concepção ocorrem no oviduto com a chegada do embrião ao corno
25 uterino aproximadamente cinco dias após a fertilização. Até o sétimo dia, o embrião assume o

1 estágio de blastocisto passando por uma fase de alongamento até o vigésimo dia de gestação
2 (BETTERIDGE et al., 1980). Em bovinos, o período em que o conceito sinaliza sua presença
3 para a mãe coincide com este alongamento embrionário e o momento em que ocorre a
4 máxima produção da proteína interferon-tau (IFNT) (ROBERTS et al., 2008).

5 O IFNT atua de forma parácrina no ambiente uterino, em conjunto com a
6 progesterona, estimulando a produção do histotrofo pelo endométrio, possibilitando e
7 incrementando a nutrição para o embrião (RIBEIRO et al., 2016). O histotrofo é composto por
8 aminoácidos, proteínas, carboidratos, lipídeos e íons produzidos pelas glândulas endometriais
9 e possui papel fundamental para atender a demanda de nutrientes aos embriões (SPENCER et
10 al., 2004). Até o início da implantação, que ocorre a partir do vigésimo dia, o embrião
11 permanece flutuando no ambiente intrauterino e depende completamente das secreções
12 uterinas constituídas pelo histotrofo para atingir seu desenvolvimento até o estabelecimento
13 de uma relação vascular através das carúnculas maternas (SPENCER et al., 2003).

14 A grande maioria dos aminoácidos, fisiologicamente, apresenta maiores concentrações
15 no útero e no oviduto do que a nível plasmático (HUGENTOBLER et al., 2007). Já durante a
16 gestação, o endométrio secretor possui mecanismos que resultam em aumentos significativos
17 nas concentrações, dentro do lúmen uterino, dos aminoácidos considerados os mais limitantes
18 em vacas leiteiras, como metionina, lisina e histidina (GROEBNER et al., 2011). Os mesmos
19 autores defendem que este aumento nos níveis de aminoácidos no útero, coincidindo com o
20 período de alongamento embrionário, pode ser explicado pelo incremento em transportadores
21 específicos de aminoácidos estimulados pela produção de IFNT, visando aumentar o
22 suprimento destes nutrientes enquanto o conceito alonga. Desta forma, o entendimento de
23 como as concentrações plasmáticas e uterinas de aminoácidos interferem nos diferentes
24 estágios do crescimento embrionário estão sendo estudados por pesquisadores em nosso
25 grupo de pesquisas e em universidades americanas.

1 Recentemente nosso grupo pesquisou os efeitos da suplementação com metionina
2 protegida da degradação ruminal em embriões no período pré-implantação através de um
3 estudo conduzido por ACOSTA et al. (2016) no Departamento de Ciências Animal da
4 *University of Illinois*. Vacas da raça Holandesa, múltíparas, foram divididas aleatoriamente
5 em dois tratamentos entre 31 e 72 dias pós-parto, incluindo um grupo controle sem
6 suplementação e um grupo suplementado com metionina protegida. Após protocolo padrão de
7 superovulação 60 dias pós-parto e lavagem dos embriões 6,5 dias após inseminação artificial,
8 a metilação global e o conteúdo lipídico dos embriões foram avaliados. Não houveram
9 diferenças nas taxas de recuperação, qualidade e células embrionárias, porém, embriões
10 oriundos de vacas suplementadas com metionina apresentaram menores níveis globais de
11 metilação e maior conteúdo lipídico. Os resultados levam a conclusão de que a suplementação
12 de metionina impacta na pré-implantação do embrião, melhorando a capacidade de
13 sobrevivência, visto que existem fortes evidências de que as reservas de lipídeos endógenos
14 servem como substrato energético para o conceito. Esse aumento pode ser explicado pelo fato
15 da suplementação com metionina estimular a retirada de triacilglicerol hepático, aumentando
16 os níveis de ácidos graxos na corrente sanguínea (MARTINOV et al., 2010). Segundo
17 STURMEY et al. (2009) reservas de lipídios servem como fonte de energia para embriões
18 pré-implantados e contribuem para a síntese de membrana. Assim, um maior acúmulo de
19 lipídeos nos embriões pré-implantados aumenta sua capacidade de sobrevivência.

20 A qualidade embrionária também foi avaliada por SOUZA et al. (2012) em um total
21 de 570 embriões provenientes de vacas suplementadas com metionina e não foram
22 encontradas diferenças em taxas de fertilização e em parâmetros qualitativos, confirmando
23 que, pelo menos do ponto de vista morfológico, o fornecimento de metionina não alterou o
24 desenvolvimento precoce dos embriões.

1 Ainda na *University of Illinois*, ACOSTA et al. (2017) avaliaram os efeitos da
2 suplementação de metionina protegida da degradação ruminal sobre o potencial
3 esteroidogênico do primeiro folículo dominante pós-parto em vacas Holandesa múltiparas. A
4 suplementação não influenciou nos dias até a primeira ovulação, no número de vacas que
5 ovularam na primeira onda folicular e nas concentrações plasmáticas e foliculares de estradiol
6 e progesterona. Porém, foram verificadas diferenças com concentrações maiores de metionina
7 no líquido folicular do primeiro folículo pós-parto e alterações em expressão de mRNA em
8 células foliculares de vacas suplementadas com metionina.

9 O mesmo conjunto de animais foi utilizado para a determinação dos efeitos da
10 suplementação de metionina na descarga vaginal e na citologia uterina. Amostras de
11 endométrio foram coletadas utilizando escovas citológicas e fixadas em lâminas para
12 contagem de células polimorfonucleares (PMN). Após avaliação nas concentrações de PMN,
13 não foram observadas diferenças entre os tratamentos (SKENANDORE et al., 2017).

14 Estudos realizados *in vitro* avaliaram se o metabolismo da metionina era necessário
15 para o desenvolvimento de embriões bovinos. Foram adicionadas, em meio as culturas dos
16 embriões, soluções a base de etionina ou metionina com a hipótese de que a etionina
17 bloquearia o metabolismo da metionina na via de um carbono. Os resultados demonstram que
18 a etionina não inibiu o desenvolvimento do embrião até o estágio de mórula, porém
19 impossibilitou a chegada até o estágio de blastocisto. Em contrapartida, o desenvolvimento
20 até o estágio de blastocisto foi parcialmente restaurado pela adição de S-adenosil-L-metionina
21 (SAM) (IKEDA et al., 2012). A metilação ocorre por meio da adição, por ligação covalente,
22 de um grupamento metil (CH₃) na posição 5 do anel pirimídico de uma citosina,
23 transformando-a em 5-metil-citosina (5mC), a 5mC é considerada o “quinto nucleotídeo”. O
24 DNA é metilado por meio da ação das metiltransferases e o doador universal do grupamento
25 metil é a SAM, principal enzima responsável por este fornecimento de grupamento CH₃

1 quando associada ao DNA (NICIURA & SARAIVA, 2014). Portanto, a metionina mostra
2 uma função fundamental no avanço do embrião em bovinos dos estágios iniciais de mórula
3 para blastocisto.

4 Além disso, autores como PEÑAGARICANO et al. (2013) investigaram as influências
5 genômicas da suplementação com metionina através da recuperação de embriões de alta
6 qualidade provenientes de vacas suplementadas ou não com metionina protegida,
7 comprovando a capacidade de modulação na expressão de genes relacionados ao
8 desenvolvimento embrionário. Um total de 276 genes foram expressos com diferença
9 significativa em embriões de vacas suplementadas, com um marcado silenciamento na grande
10 maioria dos genes, explicado pelo autor como uma resposta esperada, visto a correlação direta
11 entre o incremento nas concentrações de metionina e o aumento da metilação do DNA.

12 Poucos trabalhos recentes discutem os efeitos da suplementação com metionina
13 protegida na performance reprodutiva em bovinos de corte. Nosso grupo de pesquisas
14 delineou um experimento para determinar os impactos de um suplemento mineral enriquecido
15 com metionina protegida na dinâmica folicular e índices reprodutivos em 100 novilhas de
16 corte, nulíparas, raça Brangus (5/8 Angus x 3/8 Brahman) e submetidas a protocolo de IATF.
17 Após 45 dias de suplementação os animais foram sincronizados em protocolo padrão de IATF
18 sendo avaliados os diâmetros dos folículos dominantes entre o oitavo e décimo dia de
19 protocolo, com intervalos de 24 horas. O grupo de novilhas que recebeu metionina obteve
20 uma tendência a maior diâmetro folicular, em milímetros, comparado ao grupo controle
21 (11,76±2,07 vs. 10,86±2,75). Entretanto não houve diferença na taxa de concepção aos 30 e
22 60 dias após a IATF (DOMINGUEZ et al., 2017).

23 Outros autores também demonstraram efeitos da metionina protegida em novilhas de
24 corte cruzadas (*Bos taurus* x *Bos indicus*) suplementadas durante 45 dias, com mistura de
25 melaço e ureia enriquecida com metionina. As medidas ultrassonográficas em série do ovário

1 foram realizadas para determinar a dinâmica de crescimento folicular, encontrando maior
2 porcentagem de folículos ovarianos com diâmetro superior a 9 milímetros no grupo
3 tratamento (26,7%), comparado ao grupo controle (6,4%), durante o período de
4 suplementação. Quando o período de suplementação terminou, a porcentagem de fêmeas com
5 folículos maiores que 9 milímetros foi de 60% nas novilhas suplementadas com metionina e
6 18,8% nas novilhas que não receberam a suplementação. Ademais, a porcentagem de
7 ovulação, após o período de sincronização de estro, foi de 86,7%, no grupo suplementado,
8 para 62,5%, no grupo controle, comprovando que o suplemento adicionado de metionina
9 favoreceu o estabelecimento da atividade ovariana e dinâmica folicular (ALONSO et al.,
10 2008).

11 Em conclusão, pode-se destacar os benefícios da suplementação estratégica com
12 metionina protegida, em parâmetros reprodutivos, principalmente relacionados ao período
13 pré-implantação embrionária, momento em que a ausência de uma comunicação vascular com
14 a mãe torna o conceito totalmente dependente dos fluídos intrauterinos para o
15 desenvolvimento. Além disso, quando observados os resultados em incremento de atividade
16 ovariana, tanto em crescimento folicular como em tamanho do folículo dominante, a
17 estratégia de suplementar determinadas categorias se tornam viáveis.

18 Portanto, um caminho promissor nas pesquisas relacionadas à performance
19 reprodutiva tem sido apontado. Após estudos direcionados ao setor leiteiro, nosso grupo de
20 pesquisadores desenvolve projetos, neste momento, buscando esclarecer a efetividade da
21 metionina em bovinos de corte, com a inclusão de avaliações em diferentes categorias animais
22 e os seus potenciais benefícios.

23 Metionina e suas influências na resposta imune

24 A deficiência de proteínas ou aminoácidos na dieta compromete o adequado
25 funcionamento do sistema imunológico e aumenta a susceptibilidade de doenças infecciosas

1 em animais e seres humanos (CALDER & YAQOOB, 2003). Nos últimos anos, mecanismos
2 celulares e moleculares que envolvem estes processos começaram a ser esclarecidos e
3 indicam um papel importante para os aminoácidos na resposta imune, regulando a ativação de
4 leucócitos, moléculas antioxidantes, expressão gênica e produção de citocinas e anticorpos (LI
5 et al., 2007).

6 A suplementação de aminoácidos específicos através da dieta é responsável pela
7 redução da morbidade e mortalidade em quadros infecciosos. O desenvolvimento da
8 imunologia nutricional teve seu despontamento a partir de casos de desnutrição e infecção,
9 que são os fatores que mais comprometem o sistema vital de humanos e animais. Este
10 conceito de imunologia nutricional agrega metodologias de pesquisa nutricional e
11 imunológica, afim de esclarecer a função dos nutrientes no organismo (CALDER &
12 YAQOOB, 2003).

13 O sistema imune está conceitualmente dividido em defesas físicas exemplificadas por
14 barreiras naturais como a pele, imunidade inata composta pelo sistema complemento,
15 granulócitos, macrófagos, células dendríticas e *natural killers*, e a imunidade específica
16 composta pelos linfócitos T e B, além de imunoglobulinas (TIZARD, 2014). Os dois
17 sistemas, inato e específico, são submissos de certa quantidade de aminoácidos para a síntese
18 de proteínas e polipeptídeos. Neste sentido, estudos têm sido conduzidos na busca de
19 aminoácidos capazes de auxiliar o sistema imune, por desenvolverem funções importantes na
20 ativação e proliferação de leucócitos, redução do estresse oxidativo, expressão gênica e
21 produção de citocinas e imunoglobulinas (LI et al., 2007).

22 A avaliação dos benefícios na imunidade inata proporcionados por duas diferentes
23 fontes de metionina protegida foi realizada em 56 vacas leiteiras, multíparas, da raça
24 Holandesa, suplementadas durante o período de transição. Através do isolamento de
25 leucócitos PMN a partir do sangue, os autores determinaram a capacidade fagocitária após

1 desafio com *Escherichia coli* e comprovaram aumento no poder fagocitário de neutrófilos aos
2 21 dias pós-parto em vacas suplementadas (OSÓRIO et al., 2013). O mesmo grupo de
3 pesquisadores avaliou os biomarcadores sanguíneos e hepáticos ligados à função hepática,
4 inflamação e estresse oxidativo em 37 vacas Holandesas, multíparas, suplementadas com duas
5 fontes de metionina protegida no período de transição. Os resultados obtidos indicaram
6 diminuição em proteínas de fase aguda positivas como a ceruloplasmina e substância amiloide
7 A sérica, aumento de citocinas pró-inflamatórias como interleucina-6 (IL-6), maior
8 capacidade de absorção plasmática de radicais livres e incremento de produtos originados da
9 metionina, como a glutathione e carnitina hepática, contribuindo a um potente efeito
10 antioxidante em animais pertencentes aos grupos suplementados com metionina (OSÓRIO et
11 al., 2014).

12 Resultados semelhantes foram encontrados recentemente por BASTISTEL et al.
13 (2018) ao suplementar 60 vacas multíparas, raça Holandesa, com metionina protegida através
14 de núcleos de etilcelulose durante o período periparto. Foram observados incrementos na
15 funcionalidade hepática com concentrações maiores no grupo suplementado nos níveis de
16 colesterol plasmático, albumina, paraoxanase e IL-6. Além da redução em proteínas de fase
17 aguda positivas como a haptoglobina, foi verificada uma maior capacidade fagocitária de
18 neutrófilos e *oxidative burst* comparado ao grupo controle. O potencial antioxidante foi
19 comprovado através do poder de redução férrica e correlacionado aos aumentos circulantes
20 nos níveis de β -caroteno, tocoferol, glutathione total e reduzida.

21 A melhora no estado imunometabólico de vacas leiteiras suplementadas com
22 metionina protegida da degradação ruminal foi observada por ZHOU et al. (2016a) em estudo
23 com 48 vacas da raça Holandesa, multíparas. Análises de capacidade fagocitária de
24 neutrófilos e monócitos foram realizadas em conjunto com a mensuração da explosão
25 oxidativa proporcionada em situações de fagocitose. O aumento do potencial fagocítico e do

1 *oxidative burst* foi observado em vacas suplementadas com metionina. Este mesmo grupo
2 apresentou maiores concentrações de colesterol plasmático e paraoxanase, indicando melhor
3 funcionamento hepático. Também houve incremento de albumina e IL-6, associados a
4 diminuição de haptoglobina e interleucina-1 β (IL-1 β), situação que levaria a um menor estado
5 pró-inflamatório.

6 Em um estudo recente, 33 vacas multíparas da raça Holandesa foram utilizadas para
7 determinar os efeitos na resposta imune em sangue total de animais suplementados com
8 metionina protegida da degradação ruminal. Um desafio *ex vivo* com lipopolissacarídeo (LPS)
9 foi realizado a partir de amostras de sangue total para determinar os níveis de IL-6 e IL-1 β
10 além de mensurar a capacidade de fagocitose em neutrófilos e monócitos. Corroborando com
11 outro estudo (ZHOU et al., 2016a), as vacas suplementadas apresentaram maior efetividade
12 fagocitária pós-parto e aumento nas concentrações de IL-6 e IL-1 β pré-parto (VAILATI-
13 RIBONI et al., 2017). Em contrapartida, um isolamento de leucócitos PMN em bezerros
14 neonatais foi realizado por ABDELMEGEID et al. (2017) para avaliar o efeito da
15 suplementação de metionina na expressão de genes relacionados ao ciclo da metionina e a
16 resposta imune inata. Os resultados demonstraram que a suplementação de metionina
17 promoveu redução na expressão gênica de interleucina-10 (IL-10), IL-6, em receptores de
18 reconhecimento padrão tipo *Toll-Like* (TLR-4) e vias de transcrição (NF κ B), indicando que o
19 tratamento atenuou a ativação inflamatória de células PMN.

20 Nosso grupo de pesquisas JACOMETO et al. (2016), em conjunto com o laboratório
21 de pesquisas *Mammalian NutriPhysioGenomics* da *University of Illinois*, realizaram a
22 verificação dos efeitos da suplementação materna de metionina protegida da degradação
23 ruminal sobre biomarcadores sanguíneos e hepáticos relacionados ao metabolismo energético,
24 inflamação e estresse oxidativo em bezerros neonatos da raça Holandesa. Ao todo foram
25 avaliados 23 biomarcadores sanguíneos e 24 genes através de transcriptoma hepático. Os

1 animais provenientes de mães suplementadas com metionina durante o pré-parto
2 apresentaram menores concentrações de espécies reativas ao oxigênio (ROS) e
3 ceruloplasmina, indicando maior capacidade antioxidante e redução de estresse.

4 Desta forma, a síntese dos resultados obtidos nestas últimas décadas de pesquisas no
5 poder imunonutricional da metionina, em sua forma protegida da degradação ruminal em
6 bovinos, nos levam a conclusão de que grande parte dos benefícios passam pelo efeito na
7 proteção e incremento da funcionalidade hepática. O marcado aumento nas concentrações de
8 componentes fundamentais na remoção de radicais livres com potente efeito antioxidante,
9 como a glutathione, evidenciam a capacidade desta estratégia em reduzir o estresse oxidativo.

10 Além disso, a imunidade inata foi o alvo dos estudos conduzidos recentemente, com
11 notório aumento na capacidade fagocitária de neutrófilos associado ao incremento em
12 espécies reativas ao oxigênio, comprovando um favorecimento na atividade anabólica de
13 leucócitos. Já quando associada aos efeitos reguladores perante aos processos inflamatórios,
14 percebe-se esta estratégia alimentar como uma ferramenta de imunomodulação, com uma
15 certa contradição em determinados estudos que observam aumento em componentes pró-
16 inflamatórios contra outros resultados que indicam redução marcada da inflamação,
17 comprovada por mensuração de proteínas de fase aguda e interleucinas importantes nestes
18 processos.

19 Metionina e suas influências no desempenho produtivo

20 Ao pesquisar as influências da suplementação de metionina protegida em desempenho
21 produtivo de bovinos, observamos que os estudos se direcionam para o setor leiteiro,
22 evidenciando uma carência em resultados na bovinocultura de corte. Recentemente, nosso
23 grupo de pesquisas vem desenvolvendo trabalhos que buscam esclarecer os possíveis
24 benefícios deste aminoácido também na pecuária de corte, apontando resultados promissores
25 em determinadas categorias. Avaliamos os efeitos da suplementação de metionina protegida

1 sobre o ganho de peso em novilhas de corte submetidas a protocolo de inseminação artificial
2 em tempo fixo (IATF). O experimento foi conduzido em uma fazenda experimental localizada
3 na região centro-oeste do Rio Grande do Sul, utilizando 100 novilhas da raça Brangus (5/8
4 Angus x 3/8 Brahman), nulíparas, com idade entre 18 e 24 meses. Os animais foram divididos
5 em dois grupos homogêneos, onde o grupo controle foi mantido em pastagem nativa com
6 acesso a suplementação mineral e o grupo metionina, mantido sob as mesmas condições,
7 sendo adicionado metionina ao suplemento mineral. A suplementação para os dois grupos
8 teve início 45 dias antes do protocolo de IATF e o consumo foi monitorado a cada 15 dias até
9 o final do período experimental. O grupo metionina obteve maior peso comparado ao grupo
10 controle ($398,57 \pm 28,47$ vs. $389,27 \pm 21,44$), nas pesagens realizadas em intervalos irregulares,
11 foi observada uma interação entre tempo e tratamento aos 60 e 100 dias após o início da
12 suplementação (DOMINGUEZ et al., 2017). Em contrapartida, ao avaliar os efeitos da
13 suplementação de um análogo da hidroximetionina sobre o ganho de peso, escore de
14 condição corporal e a produção de leite em vacas de corte CLEMENTS et al. (2017) não
15 encontraram diferenças entre os animais suplementados e o grupo controle. Resultados
16 similares foram observados por WATERMAN et al. (2012), investigando os efeitos da
17 metionina protegida sobre as concentrações plasmáticas de aminoácidos em novilhas de corte
18 ao final da gestação e não foram observadas diferenças em ganho de peso e escore de
19 condição corporal no grupo suplementado, assim como foram semelhantes os pesos ao nascer
20 dos bezerros entre os tratamentos.

21 Uma série de estudos avaliaram os efeitos da utilização de metionina protegida no
22 desempenho produtivo de vacas leiteiras. Em uma meta-análise incluindo 35 experimentos foi
23 comprovado um significativo aumento nas quantidades de proteína do leite em vacas
24 suplementadas com 25 gramas de metionina ao dia (VYAS & ERDMAN, 2009). Investigando
25 o desempenho produtivo, OSÓRIO et al. (2013) observaram que vacas leiteiras, múltiparas,

1 suplementadas com metionina produziram mais 3,4 kg de leite ao dia, com maior percentual
2 de proteínas (0,18%) e 0,18 kg por dia a mais de gordura no leite, além de maior produção
3 leiteira corrigida em termos energéticos, correspondente a 3,9 kg ao dia. Recentemente, a
4 performance produtiva de 81 vacas da raça Holandesa, suplementadas com metionina
5 protegida da degradação ruminal, foi avaliada durante o período de transição, comprovando
6 que vacas suplementadas obtiveram maior produção leiteira em kg por dia (44,30 vs. 40,30) e
7 maior percentual de proteína no leite (3,32 vs. 3,14) (ZHOU et al., 2016b). Utilizando outra
8 fonte de metionina protegida através de etilcelulose, o mesmo grupo de pesquisas,
9 desenvolveu um estudo com 60 vacas multíparas, raça Holandesa, verificando em animais
10 suplementados uma maior ingestão de matéria seca ao longo de todo o período de transição,
11 com consequente aumento em produção de leite, rendimento de gordura e proteína do leite
12 (BATISTEL et al., 2017).

13 Os crescentes avanços nas formulações de dietas adicionando os requerimentos
14 mínimos de aminoácidos, associados as recentes pesquisas desenvolvidas na área,
15 proporcionaram um importante aumento na demanda por suplementos a base de metionina
16 protegida da degradação ruminal pelas propriedades leiteiras. Este fato impulsionou o setor
17 industrial e o surgimento de novos produtos disponíveis no mercado levou a elaboração de
18 uma pesquisa verificando os efeitos comparativos entre três diferentes fontes de metionina
19 protegida da degradação ruminal sobre a produção de leite em vacas leiteiras. Ao total, 12
20 vacas multíparas da raça Holandesa foram utilizadas em um quadrado latino 4x4 e
21 suplementadas por um período de 21 dias. Os tratamentos incluíram uma dieta controle a base
22 de silagem de milho e pastagem de alfafa e os demais grupos incrementados com uma das três
23 principais fontes disponíveis de metionina no mercado. Dentre os resultados, os tratamentos
24 não apresentaram efeitos em relação ao rendimento do leite, concentrações de gordura ou
25 lactose no leite. Entretanto, o teor de proteína no leite foi elevado em apenas um dos produtos

1 avaliados (ZANG et al., 2017), evidenciando a importância da fonte de metionina a ser
2 utilizada.

3 Neste sentido, quando avaliadas as influências da utilização de metionina protegida
4 frente a produtividade, a correlação mais evidente é o incremento em proteína no leite. Desta
5 forma, estratégias de mercado que permitam a bonificação de produtores na composição de
6 sólidos totais podem acelerar e viabilizar estas ferramentas de suplementação. Além disso,
7 alguns resultados apontam os potenciais frente ao aumento na produção e rendimento do leite,
8 e ainda na porcentagem de gordura no leite. Porém, ainda menos comprovados do que a
9 correlação direta entre o incremento da metionina limitante e a síntese direta de caseína pela
10 glândula mamária.

11 Do ponto de vista produtivo em relação ao ganho de peso, ainda temos contradições na
12 literatura recente, com resultados variados muito relacionados ao tipo de categoria animal
13 estudada e composição total da dieta. Em bovinos de corte mantidos em pastagens, outro fator
14 que proporciona influências diretas, é a qualidade e perfil de aminoácidos presentes nestas
15 forragens.

16 Portanto, ao mesmo tempo em que encontramos, em experimentos conduzidos pelo
17 nosso grupo de pesquisas, diferenças significativas no ganho de peso em novilhas nulíparas
18 suplementadas, outros grupos de pesquisadores divergem destes resultados eliminando a
19 associação entre o incremento da metionina perante ao aumento na conversão alimentar e
20 ganho de peso em vacas múltiparas. Estas contradições nos levaram a ampliar nossas linhas
21 de pesquisas e atualmente estão sendo conduzidos experimentos a campo para elucidar as
22 reais possibilidades de incremento em desempenho, através de uma série de metodologias
23 incluindo avaliações zootécnicas e moleculares.

24 **CONCLUSÃO**

1 Esta revisão indica os potenciais benefícios da suplementação estratégica com
2 metionina protegida da degradação ruminal em bovinos e suas influências em aspectos
3 relacionados a eficiência reprodutiva, resposta imune e desempenho produtivo. O maior
4 aporte de nutrientes durante o período de implantação embrionária além de um incremento na
5 atividade ovariana se destaca entre as principais vantagens frente a resposta na reprodução.
6 Perante a resposta imune, os resultados mais evidentes estão relacionados aos benefícios na
7 imunidade inata, com marcado aumento na capacidade fagocitária de neutrófilos e monócitos,
8 assim como um importante efeito antioxidante mediado por produtos originários da
9 metionina. Finalmente, quando avaliadas as influências em produtividade, a correlação mais
10 direta e comprovada é o incremento em proteína no leite, associado a um potencial aumento
11 na produção total e maior rendimento.

12 **DECLARATION OF CONFLICTING INTERESTS**

13 We have no conflict of interest to declare.

14 **REFERÊNCIAS**

15 ABDELMEGEID, M. K. et al. Supplemental methionine, choline, or taurine alter in vitro
16 gene network expression of polymorphonuclear leukocytes from neonatal Holstein calves.
17 **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 4, p. 3155-3162, 2017.

18 ACOSTA, D. A. V. et al. Effects of rumen-protected methionine and choline supplementation
19 on the preimplantation embryo in Holstein cows. **Theriogenology**, v. 85, n. 9, p. 1669-1679,
20 2016.

21 ACOSTA, D. A. V. et al. Effects of rumen-protected methionine and choline supplementation
22 on steroidogenic potential of the first postpartum dominant follicle and expression of immune
23 mediators in Holstein cows. **Theriogenology**, v. 96, n. 1, p. 01-09, 2017.

- 1 ALONSO, L. et al. Effect of ruminally protected Methionine on the productive and
2 reproductive performance of grazing *Bos indicus* heifers raised in the humid tropics of Costa
3 Rica. **Tropical Animal Health and Production**, v. 40, n. 8, p. 667-672, 2008.
- 4 ANTONIAZZI, A. Q. et al. Função do interferon-tau durante o reconhecimento materno da
5 gestação em ruminantes. **Ciência Rural**, v. 41, n. 1, p. 176-185, 2011.
- 6 BATISTEL, F. et al. Ethyl-cellulose rumen-protected methionine enhances performance
7 during the periparturient period and early lactation in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy
8 Science**, v. 100, n. 9, p. 7455-7467, 2017.
- 9 BATISTEL, F. et al. Ethyl-cellulose rumen-protected methionine alleviates inflammation and
10 oxidative stress and improves neutrophil function during the periparturient period and early
11 lactation in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 1, p. 480-490, 2018.
- 12 BETTERIDGE, K. J. et al. Collection, description and transfer of embryos from cattle 10-16
13 days after oestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 59, n. 1, p. 205-216, 1980.
- 14 BROSANAN, J. T.; BROSANAN, M. E. The sulfur-containing amino acids: an overview. **The
15 Journal of Nutrition**, v. 136, n. 6, p. 1636S-1640S, 2006.
- 16 CALDER, P. C.; YAQOOB, P. **Metabolic & Therapeutic Aspects of Amino Acids in
17 Clinical Nutrition**. Boca Raton: CRC Press, 2003. 776p.
- 18 CHEN, Z. H. et al. Effect of feeding different sources of rumen-protected methionine on milk
19 production and N-utilization in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 4, p.
20 1978-1988, 2011.
- 21 CLEMENTS, A. R. et al. Effects of supplementing methionine hydroxy analog on beef cow
22 performance, milk production, reproduction, and preweaning calf performance. **Journal of
23 Animal Science**, v. 95, n. 12, p. 5597-5605, 2017.
- 24 DOMINGUEZ, J. H. et al. Efeito da suplementação de metionina sobre o ganho de peso e
25 diâmetro folicular em novilhas de corte submetidas a protocolo de inseminação artificial em

- 1 tempo fixo. In: XII SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION ANIMAL, 2017,
2 Cordoba. **ABSTRACTS**. IRAAC, Cordoba, 2017. p. 373.
- 3 GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto
4 Alegre: Editora da UFRGS, 2006. 364p.
- 5 GRAULET, B. et al. Methionine availability in plasma of dairy cows supplemented with
6 methionine hydroxy analog isopropyl ester. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 10, p. 3640-
7 3649, 2005.
- 8 GROEBNER, A. E. et al. Increase of essential amino acids in the bovine uterine lumen during
9 preimplantation development. **Reproduction**, v. 141, n. 5, p. 685-695, 2011.
- 10 HUGENTOBLER, S. A. et al. Amino acids in oviduct and uterine fluid and blood plasma
11 during the estrous cycle in the bovine. **Molecular Reproduction and Development**, v. 74, n.
12 4, p. 445-454, 2007.
- 13 IKEDA, S. et al. Importance of methionine metabolism in morula-to-blastocyst transition in
14 bovine preimplantation embryos. **The Journal of Reproduction and Development**, v. 58, n.
15 1, p. 91-97, 2012.
- 16 JACKSON, A. Amino acids: essential and non-essential? **The Lancet**, v. 321, n. 8332, p.
17 1034-1037, 1983.
- 18 JACOMETO, C. B. et al. Maternal rumen-protected methionine supplementation and its
19 effect on blood and liver biomarkers of energy metabolism, inflammation, and oxidative
20 stress in neonatal Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 8, p. 6753-6763, 2016.
- 21 LI, P. et al. Amino acids and immune function. **The British Journal of Nutrition**, v. 98, n. 2,
22 p. 237-252, 2007.
- 23 MARTÍNEZ, Y. et al. The role of methionine on metabolism, oxidative stress and diseases.
24 **Amino Acids**, v. 49, n. 12, p. 2091-2098, 2017.

- 1 MARTINOV, M. V. et al. The logic of the hepatic methionine metabolic cycle. **Biochimica et**
2 **Biophysica Acta**, v. 1804, n. 1, p. 89-96, 2010.
- 3 NICIURA, S. C. M.; SARAIVA, N. Z. **Epigenética**: Bases moleculares, efeitos na fisiologia
4 e na patologia, e implicações para a produção animal e vegetal. Brasília: Embrapa, 2014.
5 286p.
- 6 NISWENDER, G. D. et al. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus
7 luteum. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 1, p. 01-29, 2000.
- 8 National Research Council. **Nutrients Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised**
9 **Edition**. Washington: The National Academies Press, 2001. 408p.
- 10 OSORIO, J. S. et al. Supplemental Smartamine M or MetaSmart during the transition period
11 benefits postpartal cow performance and blood neutrophil function. **Journal of Dairy**
12 **Science**, v.96, n. 10, p. 6248-6263, 2013.
- 13 OSORIO, J. S. et al. Biomarkers of inflammation, metabolism, and oxidative stress in blood,
14 liver, and milk reveal a better immunometabolic status in periparturient cows supplemented with
15 Smartamine M or MetaSmart. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 12, p. 7437-7450, 2014.
- 16 PAUL, S. S.; DEY, A. Nutrition in health and immune function of ruminants. **Indian Journal**
17 **of Animal Sciences**, v. 2, n. 85, p. 103-112, 2015.
- 18 PEÑAGARICANO, F. et al. Effect of maternal methionine supplementation on the
19 transcriptome of bovine preimplantation embryos. **PLoS One**, v. 8, n. 8, p. e72302, 2013.
- 20 REIS, W. L. S. et al. Effects of ruminal and post-ruminal protein supplementation in cattle fed
21 tropical forages on insoluble fiber degradation, activity of fibrolytic enzymes, and the ruminal
22 microbial community profile. **Animal Feed Science And Technology**, v. 218, p. 01-16,
23 2016.
- 24 RIBEIRO, E. S. et al. Biology of preimplantation conceptus at the onset of elongation in dairy
25 cows. **Biology of Reproduction**, v. 94, n. 4, p. 01-18, 2016.

- 1 ROBERTS, R. M. et al. Interferons and the maternal-conceptus dialog in mammals.
2 **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 19, n. 2, p. 170-177, 2008.
- 3 SCHWAB, C. G. Balancing diets for amino acids: nutritional, environmental and financial
4 implication. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2010, Fort Wayne.
5 **ABSTRACTS**. The Ohio State University, Columbus, 2010. p 01-13.
- 6 SKENANDORE, C. S. et al. Effects of rumen-protected methionine and choline
7 supplementation on vaginal discharge and uterine cytology of Holstein cows. **International**
8 **Journal of Veterinary Science and Medicine**, v. 5, n. 1, p. 01-07, 2017.
- 9 SOUZA, A. H. et al. Effect of methionine supplementation during postpartum period in dairy
10 cows II: embryo quality. **Journal of Dairy Science**, v. 95 (E-Suppl. 1), 2012.
- 11 SPENCER, T. E.; BAZER, F. W. Developmental biology and role of endometrial glands in
12 uterine function. **Havemeyer Foundation Monograph Series**, v. 10, n.1, p. 17-19, 2003.
- 13 SPENCER, T. E. et al. Progesterone and placental hormone actions on the uterus: insights
14 from domestic animals. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 1, p. 02-10, 2004.
- 15 STOVER, P. J. et al. Folate nutrition and blood-brain barrier dysfunction. **Current Opinion**
16 **in Biotechnology**, v. 44, n. 1, p. 146-152, 2017.
- 17 STURMEY, R. G. et al. Role of fatty acids in energy provision during oocyte maturation and
18 early embryo development. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, n. 3, p. 50-58, 2009.
- 19 TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. 568p.
- 20 VAILATI-RIBONI, M. et al. Supplementation with rumen-protected methionine or choline
21 during the transition period influences whole-blood immune response in periparturient dairy
22 cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3958-3968, 2017.
- 23 VYAS, D.; ERDMAN, R. A. Meta-analysis of milk protein yield responses to lysine and
24 methionine supplementation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 10, p. 5011-5018, 2009.

- 1 WATERMAN, R. C. et al. Effects of rumen-protected methionine on plasma amino acid
2 concentrations during a period of weight loss for late gestating beef heifers. **Amino Acids**, v.
3 43, n. 5, p. 2165-2177, 2012.
- 4 ZANG, Y. et al. Comparative effects of multiple sources of rumen-protected methionine on
5 milk production and serum amino acid levels in mid-lactation dairy cows. **The Professional**
6 **Animal Scientist**, v. 33, n. 6, p. 692-699, 2017.
- 7 ZHOU, Z. et al. Rumen-protected methionine compared with rumen-protected choline
8 improves immunometabolic status in dairy cows during the peripartal period. **Journal of**
9 **Dairy Science**, v. 99, n. 11, p. 8956-8969, 2016.
- 10 ZHOU, Z. et al. Better postpartal performance in dairy cows supplemented with rumen-
11 protected methionine compared with choline during the peripartal period. **Journal of Dairy**
12 **Science**, v. 99, n. 11, p. 8716-8732, 2016.

3 Artigos

3.2 Artigo 2

Resposta imune humoral e desempenho produtivo em novilhas de corte suplementadas com sal mineral e metionina protegida da degradação ruminal

Matheus Gomes Lopes, José Henrique Echenique Dominguez, Cristina Mendes Peter, Ederson dos Santos, Paula Almeida Rodrigues, Paulo Ricardo Centeno Rodrigues, Tony Picoli, Marcio Nunes Corrêa, Eduardo Schmitt e Geferson Fischer

Será submetido à revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

1 **Resposta imune humoral e desempenho produtivo em novilhas de corte suplementadas com sal**
2 **mineral e metionina protegida da degradação ruminal**

3 [*Humoral immune response and productive performance in beef heifers supplemented with mineral*
4 *and rumen-protected methionine*]

5 **RESUMO**

6 O objetivo deste estudo foi avaliar a resposta imune humoral e o desempenho produtivo em novilhas
7 de corte suplementadas com suplemento mineral enriquecido com metionina protegida da degradação
8 ruminal. Quarenta e oito novilhas nulíparas, raça Brangus, foram distribuídas em quatro grupos
9 experimentais com três repetições cada: Grupo Controle sem suplementação e ausente de vacinação
10 (GC01), Grupo Controle sem suplementação e com vacinação (GC02), Grupo Tratamento com
11 suplementação mineral e com vacinação (GT01) e Grupo Tratamento com suplementação mineral
12 adicionada de metionina protegida e com vacinação (GT02). Os animais foram mantidos em pastagem
13 nativa com acesso à água *ad libitum* e a suplementação disponibilizada em cochos cobertos de alto
14 consumo. Um período de suplementação prévio às vacinações de 60 dias foi adotado até a aplicação
15 da primeira dose de uma vacina experimental monovalente inativada para BoHV-5, como método de
16 estímulo da resposta imune para avaliar os efeitos da suplementação. Após 21 dias de intervalo, foram
17 realizadas coletas de soro para avaliação da resposta humoral e aplicada a segunda dose de reforço
18 vacinal, seguindo o intervalo de 21 dias para novas coletas de soro a fim de avaliar a resposta imune
19 frente ao protocolo de duas vacinações. A partir do início do experimento, os animais foram pesados
20 nos dias -60, -10, 0, 21 e 42 em relação ao protocolo vacinal. Os grupos experimentais, independente
21 do tratamento, não diferiram quanto ao peso corporal, GMD e ECC após os 102 dias de
22 suplementação. Houve diferença em relação aos dias avaliados quanto ao peso corporal e GMD.
23 Quando observada a interação entre os grupos experimentais e os dias monitorados, não observou-se
24 diferença em relação ao peso corporal, porém há diferença quanto ao GMD e ECC. Nenhum animal
25 pertencente ao GC01 soroconverteu ao longo do experimento, garantindo ausência de uma eventual
26 introdução do agente (BoHV) na área estudada. Quando os animais vacinados foram comparados ao
27 grupo controle GC01, níveis estatisticamente superiores de anticorpos neutralizantes foram observados
28 21 dias após a segunda dose vacinal. Na comparação entre os grupos suplementados e vacinados, não
29 houve diferença nas soroconversões frente ao BoHV, independente do tratamento. Os níveis de IgG
30 foram significativamente superiores nos animais suplementados quando comparado ao grupo controle,
31 não vacinado, 21 dias após a segunda dose vacinal. Quando comparados os grupos em tratamento com
32 a suplementação, não foram observadas diferenças significativas. Desta forma, o estudo conclui que
33 não houveram benefícios da suplementação mineral ou enriquecida com metionina protegida frente a
34 resposta imune humoral e ao desempenho produtivo dos animais estudados.

35 Palavras-chave: Aminoácidos. Bioma pampa. Imunidade. Mineralização.

ABSTRACT

36

37 The aim of this study was to evaluate the humoral immune response and productive performance in
38 beef heifers supplemented with mineral supplement enriched with rumen-protected methionine. Forty-
39 eight Brangus nulliparous heifers were divided into four experimental groups with three replicates
40 each: Control Group without supplementation and absence of vaccination (GC01), Control Group
41 without supplementation and vaccination (GC02), Group Treatment with mineral supplementation and
42 with vaccination (GT01) and Group Treatment with added mineral supplementation of protected
43 methionine and vaccination (GT02). The animals were kept in native pasture with access to water *ad*
44 *libitum* and the supplementation made available in high consumption covered troughs. A period of
45 supplementation prior to 60-day vaccinations was adopted until challenge with the application of the
46 first dose of a monovalent experimental vaccine for BoHV-5. After a 21-day interval, serum samples
47 were collected to evaluate the humoral response and the second vaccine booster dose was applied,
48 following the 21-day interval for new serum collections to evaluate the immune response against the
49 two-vaccination protocol. From the beginning of the experiment, the animals were weighed on days -
50 60, -10, 0, 21 and 42 in relation to the vaccine protocol. Experimental groups, regardless of treatment,
51 did not differ in body weight, DAG and BCS after 102 days of supplementation. There were
52 differences in relation to the days evaluated for body weight and DAG. When observed the interaction
53 between the experimental groups and the monitored days, we did not observe difference in relation to
54 the body weight, but they differ regarding the DAG and BCS. No animals belonging to GC01
55 seroconverted throughout the experiment, guaranteeing absence of a possible introduction of the agent
56 (BoHV) in the studied area. When vaccinated animals were compared to the GC01 control group,
57 statistically higher levels of neutralizing antibodies were observed 21 days after the second vaccine
58 dose. In the comparison between the supplemented and vaccinated groups, there was no difference in
59 the seroconversions against BoHV, regardless of the treatment. IgG levels were significantly higher in
60 the supplemented animals when compared to the unvaccinated control group, 21 days after the second
61 vaccine dose. When comparing the groups under treatment with supplementation, no significant
62 differences were observed. Thus, the study concludes that there were no benefits of methionine-
63 enriched mineral or enriched supplementation against the performance and humoral immune response
64 of the animals studied.

65 Keywords: Amino acids. Biome pampa. Immunity. Mineralization.

66

INTRODUÇÃO

67 A suplementação estratégica em sistemas de bovinocultura de corte vem ganhando destaque especial
68 no atual cenário da pecuária nacional. A medida que a intensificação da agricultura local restringe as
69 áreas de pastagens disponíveis para a criação extensiva, medidas que potencializem o aproveitamento
70 das forragens são de extrema importância para o aumento na produtividade do sistema. Considerando

71 que estas pastagens geralmente não apresentam todos os componentes nutricionais essenciais, em
72 quantidade e qualidade adequada, a suplementação mineral é um componente importante para bovinos
73 de corte e necessária para vários processos bioquímicos, incluindo o desenvolvimento esquelético e
74 muscular (SUTTLE, 2010) e aperfeiçoamento da resposta imune frente a desafios (MANDAL et al.,
75 2007; HALL et al., 2011).

76 Outra tendência no mercado atual de suplementação são os aminoácidos protegidos da degradação
77 ruminal. Com o aprimoramento na formulação de dietas para ruminantes, o conceito de proteína
78 degradável no rúmen se consolidou como uma base importante nas avaliações. Visto a essencialidade
79 de determinados aminoácidos como a metionina para esta espécie, associado a limitação deste
80 nutriente em forragens com baixos níveis proteicos, estratégias que permitem aumentar a
81 disponibilidade destes nutrientes pela proteção da degradação ruminal apresentam resultados
82 promissores (WATERMAN et al., 2012).

83 O equilíbrio nutricional é um importante modulador da função imune. As dietas influenciam a
84 imunidade através de substratos necessários para células de defesa, além de efeitos reguladores diretos
85 sobre as mesmas. Importantes substratos minerais e proteicos, como os aminoácidos, são necessários
86 para a atividade anabólica de leucócitos, tais como a proliferação leucocitária e a produção de
87 anticorpos (PAUL; DEY, 2015).

88 Estudos realizados por Osório et al. (2013) demonstraram que vacas leiteiras suplementadas com
89 metionina protegida da degradação ruminal, apresentaram benefícios em respostas metabólicas e
90 imunológicas significativos, com incrementos relacionados a desempenho produtivo e aumento da
91 capacidade fagocitária de células polimorfonucleares. Este mesmo grupo de pesquisadores, avaliando
92 biomarcadores sanguíneos e hepáticos relacionados a inflamação e ao estresse oxidativo em vacas
93 leiteiras, comprovaram os benefícios da suplementação com metionina no estado imunometabólico.
94 Foram observadas diminuições em proteínas de fase aguda positivas e citocinas pró-inflamatórias,
95 maior capacidade de absorção plasmática de radicais livres e incremento de seus produtos como
96 glutathione e carnitina hepática, associados a um potente efeito antioxidante (OSÓRIO et al., 2014).

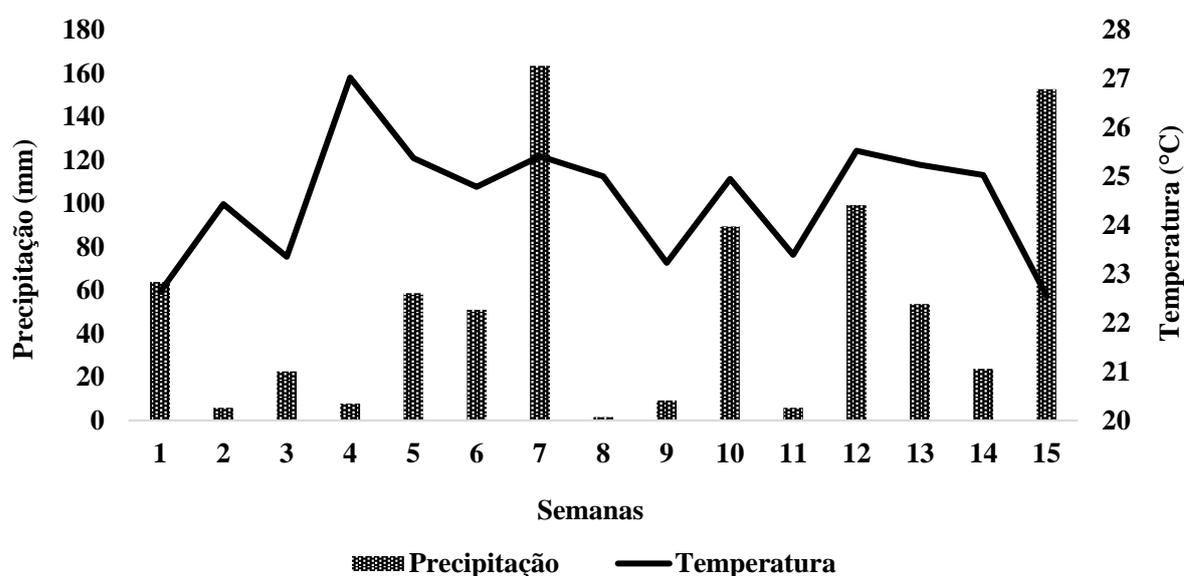
97 Estes produtos, derivados de aminoácidos sulfurados, como glutathione, taurina, homocisteína e
98 poliaminas, já são conhecidos quanto aos benefícios frente ao sistema imunológico em humanos e
99 auxiliam a impulsionar o bom funcionamento imune (GRIMBLE et al., 2006). Quando se pesquisa os
100 benefícios destes nutrientes através da suplementação de bovinos de corte, poucos estudos abordaram
101 esta possível correlação. Ainda na pecuária leiteira, as pesquisas recentes têm mantido o foco no
102 incremento da resposta imune inata, porém pouco se elucidou os efeitos destas estratégias frente a
103 resposta imune humoral. Confirmando a importância dos minerais e aminoácidos nos processos
104 fisiológicos da resposta imune e no desenvolvimento de ruminantes, estudos que confirmem estas
105 relações em bovinos de corte ainda precisam ser desenvolvidos. Portanto, o objetivo deste trabalho foi
106 avaliar os efeitos de uma suplementação estratégica através de suplemento mineral enriquecido com

107 metionina protegida da degradação ruminal perante ao desempenho produtivo e a resposta imune
 108 humoral em novilhas de corte.

109 MATERIAL E MÉTODOS

110 *Estação Experimental*

111 O experimento foi conduzido em uma estação experimental localizada na região centro-oeste do Rio
 112 Grande do Sul (30°14'S, 54°36'O) no período de 29/11/2016 a 14/03/2017 e aprovado pelo comitê de
 113 ética e experimentação animal da Universidade Federal de Pelotas - RS, através do número de registro
 114 4514-2017. O clima da região, segundo a classificação de Köppen (KUNINCHNER, 2001) é do tipo
 115 subtropical úmido, com chuvas distribuídas durante o ano, podendo ocorrer, ocasionalmente, períodos
 116 de estiagem nos meses de janeiro e fevereiro. O solo é luvisolo crômico órtico típico (STRECK et al.,
 117 1999). A Figura 1 ilustra os padrões médios de temperatura e precipitação semanais durante o período
 118 em que o estudo foi conduzido. Os dados climáticos foram obtidos através de uma estação
 119 meteorológica móvel (Instrutemp® ITWH-1080, Instrutemp, São Paulo, Brasil) instalada nas
 120 dependências da estação. Através da certificação da organização internacional Alianza del Pastizal®
 121 (BirdLife International, Cambridge, Reino Unido), a estação experimental integra a iniciativa de
 122 conservação das pastagens naturais da América do Sul, onde as espécies forrageiras nativas
 123 predominantes na área incluíam *Andropogon lateralis*, *Aristida laevis*, *Axonopus affinis*, *Paspalum*
 124 *plicatulum* e *Paspalum notatum*.



125 **Figura 1.** Precipitação e temperaturas semanais média durante o período de 29 de novembro de 2016 a
 126 14 de março de 2017 na estação experimental

127

128 *Seleção dos Animais*

129 Os animais foram selecionados conforme raça, idade, peso corporal, escore de condição corporal
130 (ECC), soronegativos frente ao herpesvírus bovino (BoHV) através da técnica de soroneutralização e
131 livres de infecção persistente pelo Vírus da Diarreia Viral Bovina (BVDV) através de ELISA Direto
132 (Idexx BVDV Ag/Serum Plus, Idexx Laboratories, Westbrook, EUA). Foram utilizadas 48 novilhas da
133 raça Brangus (5/8 Angus x 3/8 Brahman), nulíparas, com 14,00±2,00 meses de idade, peso médio de
134 268,18±24,45 kg e ECC médio de 2,85±0,27. Previamente, todos os animais foram submetidos a
135 manejo preventivo contra parasitoses, através da aplicação subcutânea (SC) de Moxidectina 1%
136 (Cydectin®, Zoetis, Parsippany-Troy Hills, EUA), em dose de 0,20 mg kg⁻¹. As novilhas
137 permaneceram triplamente identificadas através de brincos numerados com coloração específica para
138 cada grupo experimental, *chips* de identificação digital individual e tatuagem na orelha.

139 *Desenho Experimental*

140 Em uma área experimental correspondente a 24,00 ha foram subdivididos, em medidas iguais de 2,00
141 ha, doze piquetes possibilitando a distribuição das novilhas aleatoriamente em quatro tratamentos com
142 três repetições cada, com uma carga animal de 1,2 UA ha⁻¹, em que 1 unidade animal (UA)
143 corresponde a 450 kg. Foram incluídos quatro animais por repetição, totalizando doze animais por
144 grupo experimental, conforme a seguinte distribuição: Grupo Controle sem suplementação e ausente
145 de vacinação (GC01), Grupo Controle sem suplementação e com vacinação (GC02), Grupo
146 Tratamento com suplementação mineral (Brasão Pampiano®, Brasão do Pampa, São Gabriel, Brasil) e
147 com vacinação (GT01) e Grupo Tratamento com suplementação mineral (Brasão Pampiano®, Brasão
148 do Pampa, São Gabriel, Brasil) adicionada de metionina protegida (Smartamine® M, Adisseo, Antony,
149 França) e com vacinação (GT02).

150 Os animais foram mantidos em pastagem nativa com acesso à água *ad libitum* e a suplementação
151 disponibilizada em cochos cobertos de alto consumo, de acordo com o grupo experimental. Conforme
152 recomendação dos fabricantes, as formulações dos suplementos foram ajustadas para um consumo
153 médio diário de 100,00 g por animal ao dia. Com intervalos de quinze dias os comedouros eram
154 esvaziados para determinação de matéria seca (MS) e cálculo do consumo médio diário (CMD). A
155 composição e ingredientes das dietas está especificada conforme Tabela 1.

156 Um período de suplementação prévio às vacinações de 60 dias foi adotado até o protocolo vacinal com
157 a aplicação da primeira dose com vacina monovalente inativada para BoHV-5. Após 21 dias de
158 intervalo, foram realizadas coletas de sangue e soro para avaliação da resposta humoral gerada a partir
159 da primeira vacinação. Neste momento foi aplicada a segunda dose de reforço com a mesma vacina
160 monovalente para BoHV-5, seguindo o intervalo de 21 dias para novas coletas de sangue e soro a fim
161 de avaliar a resposta imune frente ao BoHV-5 com duas doses.

162

163 **Tabela 1.** Composição e ingredientes das dietas nos diferentes grupos experimentais

Ingredientes	GC01	GC02	GT01	GT02
Pastagem Nativa	<i>Ad libitum</i>	<i>Ad libitum</i>	<i>Ad libitum</i>	<i>Ad libitum</i>
Cálcio	-	-	150 g/Kg	150 g/Kg
Fósforo	-	-	55 g/Kg	55 g/Kg
Sódio	-	-	50 g/Kg	50 g/Kg
Enxofre	-	-	10,5 g/Kg	10,5 g/Kg
Zinco	-	-	2100 mg/Kg	2100 mg/Kg
Manganês	-	-	525 mg/Kg	525 mg/Kg
Cobre	-	-	420 mg/Kg	420 mg/Kg
Iodo	-	-	31,5 mg/Kg	31,5 mg/Kg
Cobalto	-	-	15,8 mg/Kg	15,8 mg/Kg
Selênio	-	-	10,5 mg/Kg	10,5 mg/Kg
Lasalocida Sódica	-	-	1800 mg/Kg	1800 mg/Kg
Metionina	-	-	-	40 g/Kg

164 *Análises Bromatológicas*

165 As coletas de material para análises bromatológicas, foram realizadas por um único observador nos
166 dias -60 (D-60), 0 (D0) e 42 (D42) do período experimental. A técnica preconizada foi a de
167 disponibilidade total (DT) conforme proposto por McMeniman (1997). Foram lançados de forma
168 aleatória em cada piquete experimental, quadrados metálicos medindo 0,50 x 0,50 m e o material
169 obtido na área delimitada pelo quadrado cortado rente ao solo. Após as coletas, realizou-se a pré-
170 secagem das amostras em estufa ventilada, por 72 horas, sendo posteriormente processadas em
171 moinho com peneira de malha de 1,00 mm. Foram determinados os teores de matéria seca (MS),
172 cinzas bruta (CB), extrato etéreo (EE), Proteína Bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra
173 em detergente ácido (FDA) no Laboratório de Nutrição Animal (LNA) da Universidade Federal de
174 Pelotas.

175 *Peso corporal, ganho de peso médio diário (GMD) e escore de condição corporal (ECC)*

176 A partir do início do experimento, os animais foram pesados nos dias -60 (D-60), -10 (D-10), 0 (D0),
177 21 (D21) e 42 (D42), com jejum prévio de sólidos e líquido de, no mínimo, 12h00 em sistema de
178 pesagem digital (XR3000®, Tru-Test, Porto Alegre, Brasil). No momento de saída do brete de
179 contensão as novilhas eram avaliadas quanto ao escore de condição corporal (ECC), conforme
180 adaptação da metodologia proposta por Lowman et al. (1976), considerando o escore de condição
181 sugerido em uma escala de 1 (muito magro) a 5 (muito gordo). O ganho de peso médio diário (GMD)
182 foi obtido pela diferença de peso dos animais testes entre as pesagens, dividido pelo número de dias do
183 período.

184 *Coletas e Processamento de Amostras*

185 Durante o período experimental, nos dias 0 (D0) primeira vacinação, 21 (D21) segunda vacinação e 42
186 (D42), amostras de sangue foram coletadas de todos os animais por venopunção do complexo
187 arteriovenoso coccígeo através de sistema *vacutainer* com agulhas 25 x 0,80 mm em tubos contendo
188 ativador de coágulo. Após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 400 x g durante 15 minutos e
189 divididas em microtubos de 1,50 mL previamente identificados. As amostras de soro foram colocadas
190 em banho-maria (56°C) durante 30 minutos para inativação do sistema complemento e armazenadas
191 congeladas a -20°C, para posterior titulação de anticorpos neutralizantes contra BoHV-5 através da
192 técnica de soroneutralização e determinação da produção de imunoglobulinas (IgG) frente a
193 glicoproteína D presente no envelope do herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5 gD), através da técnica
194 de ELISA Indireto.

195 *Células e Vírus*

196 Células da linhagem Madin Darby Bovine Kidney (MDBK) foram utilizadas para a produção do
197 antígeno vacinal e na soroneutralização. As células foram mantidas em meio mínimo essencial de
198 Eagle (E-MEM Gibco®, Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA), suplementadas com 10% de soro
199 fetal bovino (FBS Gibco®, Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA), 200 U.I. mL⁻¹ de sulfato de
200 estreptomicina (Estreptomax®, Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, Brasil) e penicilina (Cristalpen®,
201 Biolab Farmacêutica, São Paulo, Brasil), 5 µg mL⁻¹ de enrofloxacin (Baytril®, Bayer Animal Health,
202 Leverkusen, Alemanha) e 2,50 µg mL⁻¹ de anfotericina B (Unianf®, União Química, São Paulo,
203 Brasil).

204 *Vacinas e Inoculações*

205 Uma amostra de campo do herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5), cepa RP, foi isolada de um surto de
206 meningoencefalite no Rio Grande do Sul, Brasil, e foi previamente caracterizada (SIEDLER et al.,
207 2012). O vírus foi utilizado como antígeno vacinal e na prova de soroneutralização. Uma alíquota do
208 vírus, com título 10⁷ TCID₅₀ 25⁻¹ µL, foi inativada com 1% de brometo de 2-bromoetilamônio
209 (C₂H₇Br₂N, Merck, Darmstadt, Alemanha), em concentração de 0,02 M e pH 7,50, durante 12h00 em
210 agitação constante a 4°C. A vacina foi sintetizada através da emulsão entre a suspensão viral e
211 adjuvante oleoso (Montanide® ISA 50 V2, SEPPIC, Paris, França), na proporção 1:1. Nos dias 0 (D0)
212 e 21 (D21), os animais do Grupo Controle GC01 foram inoculados com 3 mL, por via intramuscular
213 (IM) de solução fisiológica 0,9%, a fim de simular o mesmo estresse de manejo. Os animais do Grupo
214 Controle GC02 e dos Grupos Tratamento GT01 e GT02 foram inoculados, por via IM, com 3 mL da
215 vacina experimental.

216

217 *Soroneutralização*

218 A titulação dos níveis sorológicos de anticorpos neutralizantes, conferidos pela vacina experimental,
219 foi realizada através da técnica de soroneutralização, a partir das amostras de soro. As amostras foram
220 diluídas de forma seriada nas diluições 1:2 a 1:256 e distribuídas com volume de 25 µl em
221 quadruplicata em microplacas de 96 cavidades (Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil) para posterior
222 adição de 100 TCID₅₀ do BoHV-5. Após uma hora de incubação a 37° C em ambiente com 5% de
223 CO₂, 3x10⁴ células da linhagem MDBK foram adicionadas, e as microplacas incubadas sob as mesmas
224 condições até o momento da manifestação das 100 TCID₅₀. O título de anticorpos neutralizantes foi
225 calculado pelo método de Behrends e Kärber (MAYR et al., 1982).

226 *Elisa Indireto*

227 A detecção da produção de imunoglobulinas (IgG) frente a glicoproteína D presente no envelope do
228 herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5 gD) foi realizada através de ensaio imunoenzimático ELISA
229 Indireto. Placas flexíveis de cloreto de polivinil (PVC) (Costar[®], Corning Inc., Corning, EUA) com 96
230 cavidades foram sensibilizadas durante 01h30 a 37 °C com 50 ng por cavidade de BoHV-5 gD, diluída
231 em tampão carbonato-bicarbonato (pH 9,60). O antígeno utilizado foi gentilmente cedido pelo
232 laboratório de bacteriologia do centro de desenvolvimento tecnológico CDTec - UFPEL e sintetizado
233 conforme Dummer et al. (2009). Após bloqueio por uma hora com leite em pó desnatado a 5% e três
234 lavagens com PBS-T, duplicatas dos soros, diluídos 1:1600 foram incubadas por 01h00 a 37 °C. Como
235 controle negativo foi utilizado soro fetal bovino (FBS Gibco[®], Thermo Fisher Scientific, Waltham,
236 EUA) e como controle positivo, o soro de um animal previamente vacinado com uma vacina
237 recombinante de BoHV-5 gD e comprovadamente positivo para BoHV-5 através da técnica de
238 soroneutralização. Após três lavagens com PBS-T, as placas foram incubadas por 01h30 com
239 anticorpo anti IgG bovino produzido em coelhos e conjugado com peroxidase (Sigma-Aldrich, St.
240 Louis, EUA) diluído 1:10000. Após cinco lavagens com PBS-T, a reação foi revelada com o-
241 phenylenediamine dihydrochloride (OPD) (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) associado a peróxido de
242 hidrogênio. Para o bloqueio da reação após 15 minutos foi utilizado Ácido Sulfúrico em concentração
243 2 M. A absorbância (492 nm) foi mensurada em um leitor de ELISA (TP Reader[®], Thermo Plate, São
244 Paulo, Brasil). As diluições ótimas do antígeno, soros e conjugado foram determinadas através do
245 método *checkerboard*.

246 *Análise Estatística*

247 As análises estatísticas para peso corporal, GMD, ECC, título de anticorpos neutralizantes e
248 absorbância na técnica de ELISA Indireto foram realizadas utilizando o modelo de medidas repetidas
249 *Proc Mixed Models* através do software SAS[®] (SAS Institute Inc., Cary, EUA) utilizando como
250 variáveis fixas grupo e data e como variáveis resposta peso corporal (kg), GMD, ECC, título de
251 anticorpos neutralizantes (log¹⁰) e absorbância (OD 492 nm) com análise de variância realizada

252 utilizando o modelo de comparação entre grupos, dias e a interação entre grupos e dias. Os dados
253 foram analisados considerando os animais como unidade experimental.

254 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

255 *Características da Pastagem*

256 Os resultados da análise bromatológica durante os três momentos de coletas de pastagem dias -60 (D-
257 60), 0 (D0) e 42 (D42) em relação ao protocolo vacinal, estão demonstrados na Tabela 2. Uma
258 característica predominante das pastagens nativas é a sazonalidade de produção devido a variações
259 climáticas que, em momentos de excesso de umidade e baixas temperaturas reduzem o crescimento
260 vegetativo comprometendo os níveis de PB e aumentando as concentrações de FDN,
261 consequentemente diminuindo a digestibilidade da forragem (KNORR et al., 2005). De maneira
262 surpreendente, os valores médios de PB, correspondente a 7,72%, durante o período experimental não
263 condizem com valores comumente encontrados durante a primavera-verão em pastagens nativas do
264 Rio Grande do Sul. Segundo Ospina e Medeiros (2003) em uma análise retrospectiva da qualidade
265 forrageira no estado, os campos nativos apresentam valores médios de 10,30% de PB na primavera e
266 9,80% no verão. Explicamos estes resultados, através dos números obtidos de FDN e FDA, onde os
267 altos níveis encontrados, correspondendo as médias de 71,38% de FDN e 49,5% de FDA, indicam um
268 estágio de maturação adiantado das forragens predominantes no momento, com menor proporção de
269 plantas em estágio vegetativo e aumento das proporções de plantas adultas. O incremento de fibras
270 decorrente das forragens associado a um baixo teor de PB pode ser considerado fator limitante para
271 desenvolver a microbiota ruminal, originando uma baixa digestibilidade das pastagens consumidas
272 com consequente deficiência em absorção de nutrientes (SOEST, 1994). Estas características, levam
273 às situações de diminuição no desempenho animal, onde segundo Barcellos et al. (1999), as perdas de
274 peso podem atingir até 30% do peso vivo (PV). Alguns autores consideram como 7% o valor mínimo
275 de PB necessário para o crescimento da microbiota no rúmen (MINSON, 1990; COCHRAN et al.,
276 1998), desta forma os teores de PB se mantiveram durante o experimento no limite mínimo para
277 obtermos uma resposta ruminal e possível conversão em eficiência alimentar, fatores que certamente
278 contribuíram para o baixo desempenho verificado durante o período. Porém, devemos levar em
279 consideração que a metodologia utilizada para amostragem das pastagens, através da disponibilidade
280 total (DT), não levou em consideração o método de seleção dos animais. Em virtude da categoria
281 animal estudada e temperamento característico de animais da raça Brangus, não foi empregada a
282 técnica de coleta de amostras por simulação manual de pastejo (SMP), fator que pode ter interferido na
283 mensuração dos parâmetros bromatológicos, visto que ainda houve ganho de peso apesar dos limites
284 mínimos de PB presentes. Segundo Moraes et al. (2005), as amostras obtidas por SMP, em
285 comparação com a DT, estariam mais próximas da forragem selecionada por animais em pastejo.
286 Portanto, nossas amostras poderiam estar subestimando os reais valores de PB e superestimando as

287 proporções de fibras presentes nas forragens, o que está diretamente relacionado a digestibilidade das
288 pastagens ofertadas durante o período experimental.

289 **Tabela 2.** Valores de cinzas bruta (CB), extrato etéreo (EE), Proteína Bruta (PB), fibra em detergente
290 neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA) na porcentagem de matéria seca (MS), nos três
291 momentos de coletas de pastagem, dias -60, 0 e 42 em relação ao protocolo vacinal

Composição Nutricional (% da MS)	Dias		
	D-60	D0	D42
Matéria Seca (MS)	99,77	99,73	99,72
Cinza Bruta	8,64	7,64	6,90
Extrato Etéreo	2,95	2,70	2,80
Proteína Bruta	7,41	8,15	6,34
Fibra Detergente Neutra	72,13	67,96	74,05
Fibra Detergente Ácida	64,60	39,99	43,91

292 *Desempenho Produtivo*

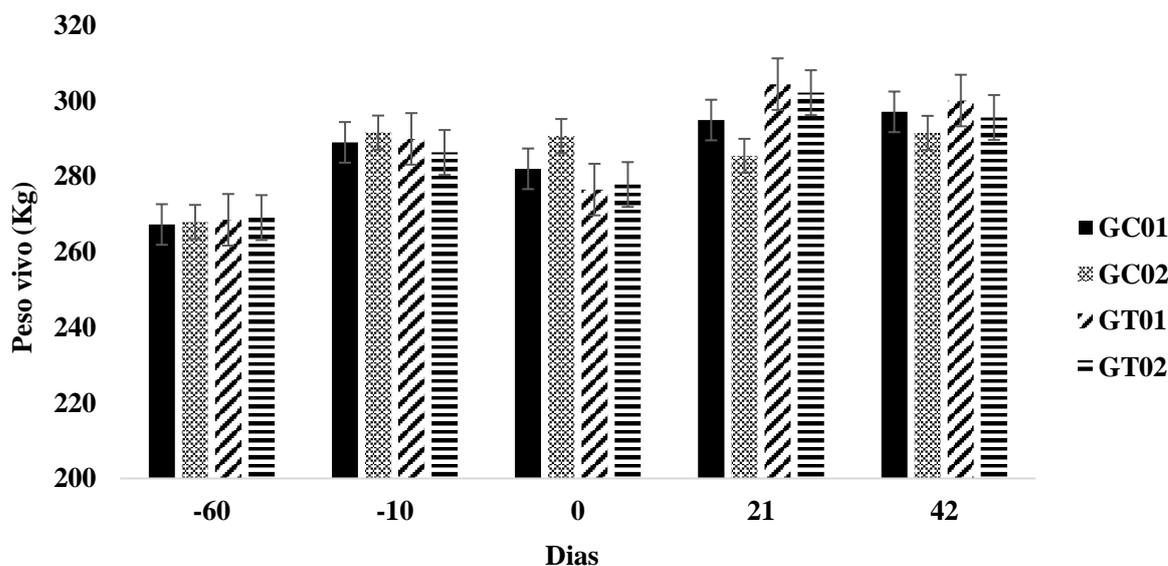
293 Os grupos experimentais, não diferiram quanto ao peso corporal (P=0,95), GMD (P=0,95) e ECC
294 (P=0,11) ao longo dos 102 dias de suplementação. Quando observada a interação entre os grupos
295 experimentais e os dias monitorados, não foi observada diferença em relação ao peso corporal
296 (P=0,79), mas sim quanto ao GMD (P≤0,0001) e ECC (P≤0,0001), conforme Tabela 3. O fator tempo
297 influenciou de forma diferente o peso corporal (P≤0,0001) e GMD (P≤0,0001) quando avaliados os
298 grupos separadamente, porém esta diferença não se manteve em relação ao ECC (P=0,08).

299 **Tabela 3.** Peso vivo, GMD e ECC médios ao final do experimento, de acordo com o grupo
300 experimental

Parâmetro	Grupos				P (Valor)		
	GC01	GC02	GT01	GT02	Grupos	Dias	Grupos*Dias
Peso vivo (kg)	286,05	285,41	287,88	286,20	0,95	≤0,0001	0,79
GMD (kg)	0,153	0,110	0,129	0,134	0,95	≤0,0001	≤0,0001
ECC	2,97	2,87	2,99	3,00	0,11	0,08	≤0,001

301 A evolução das pesagens pode ser observada conforme Figura 2. Durante o período de suplementação
302 prévio às vacinações, correspondente a 60 dias (D-60 ao D0), houve diferença em relação aos dias
303 avaliados quanto ao peso corporal (P≤0,0001), GMD (P≤0,0001) e ECC (P=0,006) desde o início da
304 suplementação (D-60) até os primeiros 50 dias (D-10), com GMD de 0,345; 0,473; 0,428 e 0,345 kg
305 nos grupos GC01, GC02, GT01 e GT02, respectivamente. O intervalo entre a última pesagem prévia
306 às vacinações (D-10) e o dia do desafio vacinal (D0), foi um período de marcada perda de peso
307 corporal para os grupos GC01, GT01 e GT02, associados a um momento de excesso de precipitação

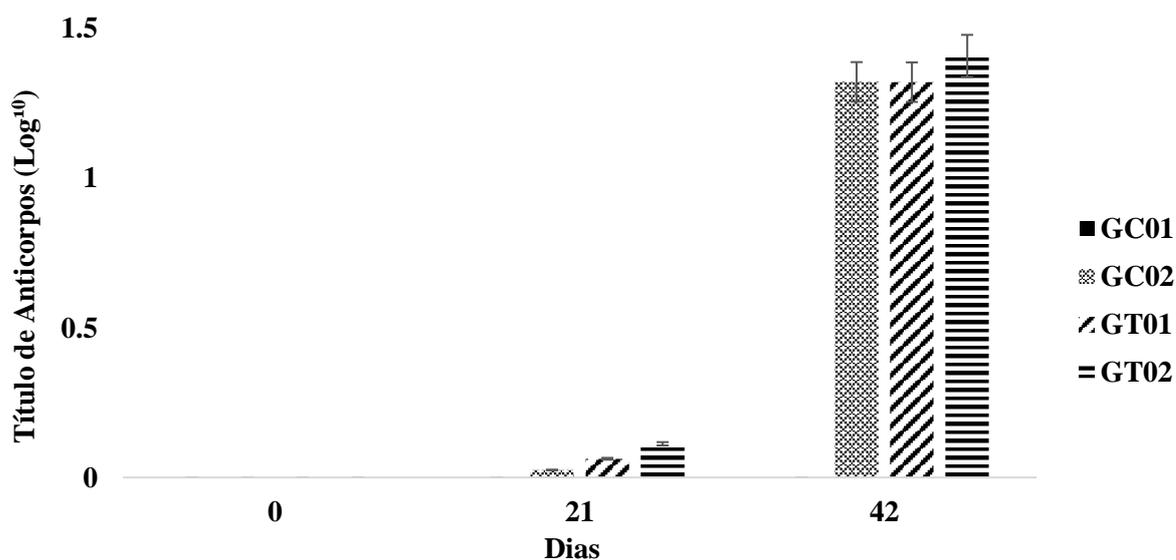
308 (174,20 mm) e queda na temperatura ambiente, com perdas médias diárias neste pequeno intervalo de
309 10 dias de 0,538; 1,032 e 0,653 kg para os grupos GC01, GT01 e GT02, respectivamente. O grupo
310 GC02 manteve o peso corporal neste período, porém perdeu peso após o início do protocolo vacinal.
311 No período após a primeira dose vacinal (D0) até o momento da segunda dose (D21) houve um ganho
312 de peso significativo ($P=0,002$). Com exceção do grupo GC02, que perdeu em média $0,250 \text{ kg dia}^{-1}$ do
313 dia 0 (D0) até o momento do reforço vacinal (D21), o GC01, GT01 e GT02 retomaram o GMD com
314 0,615; 1,329; 1,158 kg, respectivamente. Em contrapartida, este padrão de evolução no incremento de
315 peso não permaneceu constante do dia 21 (D21) ao final do período experimental. No dia 42 (D42)
316 ($P=0,89$), houve um discreto GMD para os grupos GC01 e GC02 de 0,103 e 0,289 kg,
317 respectivamente, e uma perda média diária para os grupos GT01 e GT02 de 0,206 e 0,313 kg,
318 respectivamente. A distribuição aleatória das repetições de cada grupo experimental em cada piquete
319 da área utilizada, disponibilizou uma grande homogeneidade na condução do estudo, isolando as
320 possibilidades de efeitos devido ao piquete experimental. Em contrapartida, as constantes variações
321 climáticas e demais variáveis ambientais, associadas ao estado vegetativo das forragens, comumente
322 enfrentadas em experimentos a campo e com pastagens nativas, podem ter contribuído
323 significativamente para uma falta de padrão no desempenho destas novilhas durante todo o período.
324 Em condições de pastagens com teores de PB similares ao do nosso experimento, com níveis médios
325 de 7,50%, Malafaia et al. (2004) observaram o ganho de peso de animais suplementados com minerais
326 a base de Na, P, Ca, Cu e Co, através de quatro experimentos conduzidos com animais cruzas zebuínas
327 e obtiveram GMD de 0,458 kg, valores consideravelmente superiores aos que obtivemos com GMD ao
328 final do experimento de 0,131 kg. Ainda em contrapartida com os nossos resultados, autores como
329 Menegaz et al. (2008) verificaram a influência do manejo alimentar no ganho de peso de novilhas
330 Brangus mantidas em campo nativo, sem suplementação, durante o período de inverno, observando
331 GMD de 0,261 kg no grupo de animais mantido apenas em pastagem.
332 Quando analisamos os dados obtidos pela suplementação de metionina, resultados de desempenho
333 semelhantes foram obtidos recentemente por Clements et al. (2017) ao suplementar vacas de corte em
334 final de gestação, cruzas Simental x Angus, com um análogo de hidroximetionina durante 96 dias,
335 período similar ao do nosso experimento. Em relação ao peso vivo e ECC os animais não diferiram do
336 grupo controle, sem suplementação. Assim como em estudos anteriores que já discutiam a ausência de
337 correlação entre o incremento de metionina e ganho de peso em bovinos (CLANTON; ENGLAND,
338 1980; THOMAS; LANGFORD, 1978). Neste sentido, pesquisadores defendem que a limitação e
339 necessidade de incremento em metionina sejam apenas refletidas na síntese de caseína em vacas
340 leiteiras, a medida que aumentam as exigências de acordo com o volume de leite produzido (CHEN et
341 al., 2011), tornando-se dispensável uma suplementação para aumento da conversão alimentar e
342 incremento de musculatura em bovinos de corte.



343 **Figura 2.** Evolução do peso vivo nos diferentes grupos durante o período experimental.

344 *Títulos de Anticorpos Neutralizantes e Imunoglobulinas (IgG) frente à BoHV-5 gD*

345 Os resultados das análises de soroneutralização, realizadas com as amostras de soro dos animais nos
 346 dias 0 (D0), 21 (D21) e 42 (D42) em relação ao protocolo vacinal, foram normalizados para serem
 347 expressos em logaritmo (\log^{10}) e estão ilustrados conforme Figura 3.



348 **Figura 3.** Título de anticorpos neutralizantes nos dias 0, 21 e 42, em relação ao protocolo vacinal, nos
 349 diferentes grupos avaliados

350 A distribuição percentual acumulada dos títulos de anticorpos após 21 (D21) e 42 (D42) dias de início
 351 do protocolo vacinal pode ser avaliada conforme Tabela 4. Conforme o esperado, nenhum animal
 352 pertencente ao GC01 soroconverteu ao longo do experimento, garantindo a ausência de uma eventual
 353 introdução do agente (BoHV) na área estudada. Quando os animais vacinados, foram comparados ao
 354 grupo controle GC01, sem vacinação, níveis estatisticamente superiores de anticorpos neutralizantes
 355 só foram observados 21 dias após a segunda dose vacinal (D42) ($P \leq 0,0001$).

356 Quando comparamos os grupos suplementados e vacinados, não houve diferença ($P \geq 0,05$) nas
 357 soroconversões frente ao BoHV, independente do tratamento. As titulações de anticorpos 21 dias após
 358 a primeira dose (D21), não apresentaram títulos protetores ao rebanho, com títulos ≥ 2 em apenas
 359 16,60% (2/12) dos animais no GC02, 41,60% (5/12) no GT01 e 25,00% (3/12) no GT02. O mesmo
 360 intervalo de 21 dias para novas coletas (D42) foi adotado após a segunda dose da vacina, resultando
 361 em soroconversão de 100,00% dos animais vacinados.

362 Agências reguladoras brasileiras, não definem um nível e percentual mínimo de soroconversão frente
 363 ao BoHV para considerarmos a efetividade das vacinas. Porém, considerando indicações de órgãos
 364 reguladores americanos, a utilização de vacinas inativadas frente ao BoHV deveria proporcionar
 365 soroconversão em no mínimo 80,00% dos animais com títulos de anticorpos neutralizantes ≥ 8 (US
 366 GOVERNMENT PRINTING OFFICE, 2014). Desta forma, demonstrou-se títulos ≥ 8 em 83,30%
 367 (10/12) dos animais no GC02, 83,30% (10/12) no GT01 e 83,30% (10/12) no GT02. Estes resultados
 368 indicam a importância do reforço vacinal e confirmam a efetividade da vacina experimental, com um
 369 período mínimo de 21 dias após o reforço.

370 **Tabela 4.** Distribuição percentual acumulada de títulos de anticorpos neutralizantes nos dias 21 e 42,
 371 em relação ao protocolo vacinal, nos diferentes grupos avaliados

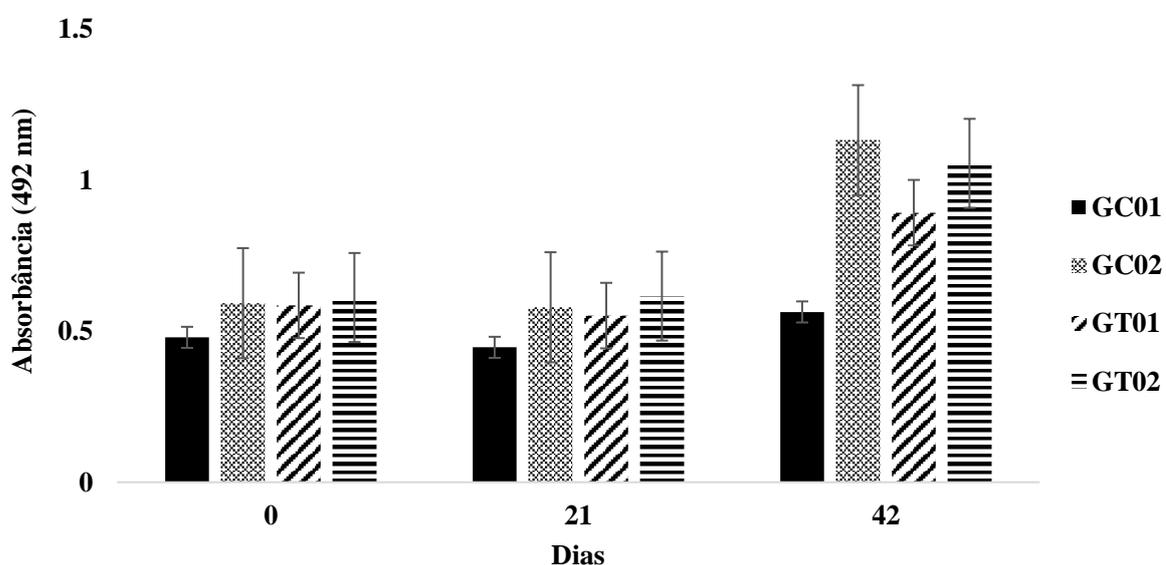
Título	D21				D42			
	GC01	GC02	GT01	GT02	GC01	GC02	GT01	GT02
0 – 7,9	0	16,60	41,60	25,00	0	100	100	100
8 – 15,9	0	0	0	8,30	0	83,30	83,30	83,30
16 – 31,9	0	0	0	8,30	0	50	66,60	66,60
≥ 32	0	0	0	0	0	33,30	33,30	41,60

372 Em contrapartida com nosso estudo, autores como Spears et al. (1991) comprovaram os benefícios da
 373 suplementação mineral com Zinco (Zn) frente a novilhos recém transportados a um sistema de
 374 confinamento e vacinados com vacina viva modificada contra o herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e
 375 Vírus da Parainfluenza tipo 3 (PI3), havendo uma significativa elevação de anticorpos neutralizantes
 376 frente ao BoHV-1 após 14 dias da dose vacinal nos animais suplementados com Zn. Já frente aos
 377 níveis de anticorpos contra PII não foram observadas diferenças. Em um segundo momento, o mesmo
 378 grupo de pesquisadores avaliou os efeitos da suplementação de Zn frente a resposta imune de novilhos
 379 em crescimento, porém sem as mesmas condições de estresse após o transporte. A resposta imune
 380 humoral foi verificada após vacinação frente ao BoHV-1, porém independente do tratamento, não

381 houveram diferenças em relação aos títulos de anticorpos (SPEARS et al., 2002). Desta forma,
 382 podemos concluir que os efeitos benéficos de um incremento na fonte de Zn frente as respostas
 383 imunes, pode estar diretamente relacionado a períodos em que os animais são submetidos a manejos
 384 estressantes, como o desmame e transportes associados a chegada em confinamentos, fatores que não
 385 foram expostas as novilhas do nosso estudo.

386 Pesquisadores como Hall et al. (2011), suplementando com Selênio (Se) vacas adultas durante 42 dias,
 387 utilizaram uma vacina composta por bacterina de *Escherichia coli*. J5 e determinaram incremento nos
 388 títulos de anticorpos vacinais. Bezerros alimentados com alfafa enriquecida com Se e submetidos a
 389 vacinação frente a bacterina de *Escherichia coli*. J5 apresentaram títulos mais altos de anticorpos e
 390 maior potencial antioxidante total de neutrófilos, além de apresentar menor mortalidade e maior peso
 391 de abate ao final do confinamento (HALL et al., 2013).

392 Os níveis de Imunoglobulinas (IgG) induzidos pela vacina experimental foram mensurados a partir de
 393 ELISA Indireto com amostras de soro coletadas nos dias 0 (D0), 21 (D21) e 42 (D42) do protocolo
 394 vacinal. Assim como o ocorrido nos títulos de anticorpos neutralizantes, mensurados por
 395 soroneutralização, os níveis de IgG foram significativamente superiores ao grupo controle não
 396 vacinado 21 dias após a segunda dose vacinal (D42), conforme ilustrado na Figura 4. Quando
 397 comparados os grupos em tratamento com a suplementação, não foram observadas diferenças
 398 significativas ($P \geq 0,05$) entre GC02(1,13±0,32), GT01(0,89±0,38) e GT02(1,05±0,39).



399 **Figura 4.** Absorbância média nos dias 0, 21 e 42, em relação ao protocolo vacinal, nos diferentes
 400 grupos avaliados, através de Elisa Indireto para detecção de Imunoglobulinas (IgG) frente à BoHV-5
 401 gD

402 Outro micromineral apontado com influências diretas sobre o desempenho do sistema imune é o Cobre
 403 (Cu). Por mais que a grande maioria dos estudos que correlacionam a deficiência de Cu a diminuições

404 da capacidade imunológica sejam realizados *in vitro*, autores como Cerone et al. (1995) trabalharam
405 com a indução da diminuição dos níveis de Cu e Ceruloplasmina em novilhas e desafiaram as mesmas
406 através de vacinação frente a *Brucella abortus*, obtendo menores níveis totais de Imunoglobulinas
407 (IgG).

408 A resposta imune também foi avaliada por Nemeč et al. (2012) em vacas leiteiras suplementadas com
409 diferentes fontes de Cu, Mn e Zn. O estudo comparou os efeitos das formas de apresentação em
410 sulfatos inorgânicos frente as apresentações protegidas através de quelatos e submeteu os animais a
411 um protocolo de vacinação contra raiva bovina. As vacas suplementadas com formas orgânicas dos
412 minerais apresentaram maiores concentrações de anticorpos e maior capacidade fagocitária de
413 neutrófilos quando comparados ao grupo de animais suplementados com as formas inorgânicas dos
414 minerais. Estes resultados podem indicar que as formas inorgânicas de apresentação dos minerais em
415 nosso experimento, assim como no trabalho citado anteriormente, tenham sofrido interferências
416 quanto à biodisponibilidade, risco este que é reduzido quando minerais são fornecidos complexados
417 com aminoácidos, por exemplo, diminuindo os riscos de antagonismos entre a eficiência da absorção
418 destes nutrientes e os microminerais (SWECKER, 2014).

419 A literatura recente não correlaciona os efeitos da suplementação de metionina protegida frente a
420 resposta imune humoral em bovinos. Nossa hipótese foi elaborada com base em estudos que
421 comprovaram o potencial deste aminoácido nas respostas em proliferações de linfócitos (SODER et
422 al., 1999) e no incremento de importantes citocinas que modulam o padrão de imunoglobulinas a ser
423 secretadas por plasmócitos, como a interleucina-6 (IL-6), significativamente aumentada em situações
424 de desafios realizados em vacas leiteira (VAILATI-RIBONI et al., 2017; ZHOU et al., 2016). Além
425 disso, estudos realizados em outras espécies defendem o incremento de metionina circulante como
426 uma forma de estimular a produção de imunoglobulinas após protocolos de vacinação. O aumento de
427 títulos de anticorpos foi verificado em frangos de corte vacinados frente a doença de Gumboro por
428 Jahanian e Khalifeh-Gholi (2018). Nesta mesma linha, a suplementação com altas doses de metionina
429 proporcionou um aumento nos títulos de anticorpos em perus jovens vacinados contra o
430 *Ornithobacterium rhinotracheale*, com incremento nas porcentagens de linfócitos TCD4 e TCD8 em
431 órgãos linfoides (KUBINSKA et al., 2015). Já em mamíferos, trabalhos como o de Jiao et al. (2016)
432 verificaram um aumento nas concentrações totais de imunoglobulinas IgG e IgA em suínos destinados
433 a terminação suplementados com dietas pobres em proteína e enriquecidas com uma combinação de
434 aminoácidos a base de lisina, treonina, triptofano, valina e metionina. Entendendo as limitações e
435 diferenças impostas pelas distâncias filogenéticas entre as espécies, consideramos que mecanismos de
436 regulação celular e molecular podem ser extrapolados dentro das vias de comunicação do sistema
437 imune. Este contexto, associado a carência de pesquisas que correlacionem este tipo de suplemento
438 com imunidade adaptativa em ruminantes, nos permite um longo caminho que ainda pode ser
439 explorado.

440

CONCLUSÕES

441 Os resultados apresentados neste estudo permitem concluir que no ponto de vista de desempenho
442 produtivo na categoria animal estudada, novilhas nulíparas mantidas em pastagem nativa, não
443 houveram incrementos satisfatórios independente da estratégia de suplementação mineral, enriquecida
444 ou não com metionina protegida. Em relação aos parâmetros imunológicos avaliados, o maior aporte
445 de minerais ou de metionina não foi convertido em aumento da soroconversão em animais vacinados,
446 com ausência de diferenças em anticorpos neutralizantes e imunoglobulinas específicas.

447 REFERÊNCIAS

448 BARCELLOS, J. O. J.; PRATES, E. R.; OSPINA, H. Suplementação mineral de ruminantes nos
449 campos nativos do Rio Grande do Sul: uma abordagem aplicada à pecuária de corte. In: ENCONTRO
450 ANUAL SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES DA UFRGS, 1999, São Gabriel. **ANAIS**. São
451 Gabriel, 1999. p. 81-110.

452 CERONE, S. I.; SANSINANE, A. S.; AUZA, N. J. Copper deficiency alters the immune response of
453 bovine. *Nutrition Research*, New York v. 15, n. 9, p. 1333-1341, 1995.

454 CHEN, Z. H.; BRODERICK, G. A.; LUCHINI, N. D.; SLOAN, B. K.; DEVILLARD, E. Effect of
455 feeding different sources of rumen-protected methionine on milk production and N-utilization in
456 lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign v. 94, n. 4, p. 1978-1988, 2011.

457 CLANTON, D. C.; ENGLAND, M. E. Methionine hydroxy analog in supplements for lactating beef
458 cows. *Journal of Animal Science*, Champaign v. 51, n. 3, p. 539-543, 1980.

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

462 COCHRAN, R. C.; KÖSTER, H. H.; OLSON, K. C.; HELDT, J. S.; MATHIS, C. P.; WOODS, B. C.
463 Supplemental protein sources for grazing beef cattle. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT
464 NUTRITION SYMPOSIUM, 1998, Gainesville. **ABSTRACTS**. Gainesville, 1998. p. 123-136.

465 DUMMER, L. A.; CONCEIÇÃO, F. R.; NIZOLI, L. Q.; MORAES, C. M.; ROCHA, A. R.; SOUZA,
466 L. L.; ROOS, T.; VIDOR, T.; LEITE, F. P. Cloning and expression of a truncated form of envelope
467 glycoprotein D of Bovine herpesvirus type 5 in methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. *Journal of*
468 *Virological Methods*, Amsterdam v. 161, n. 1, p. 84-90, 2009.

469 GRIMBLE, R. F. The effects of sulfur amino acid intake on immune function in humans. *The Journal*
470 *of Nutrition*, Rockville v. 136, n. 6, p. 1660S-1665S, 2006.

- 471 HALL, J. A.; BOBE, G.; VORACHEK, W. R.; HUGEJILETU.; GORMAN, M. E.; MOSHER, W. D.;
472 PIRELLI, G. J. Effects of feeding selenium-enriched alfalfa hay on immunity and health of weaned
473 beef calves. *Biological Trace Element Research*, Clifton v. 156, n. 1-3, p. 96-110, 2013.
- 474 HALL, J.A.; HARWELL, A. M.; VAN SAUN, R. J.; VORACHEK, W. R.; STEWART, W. C.;
475 GALBRAITH, M. L.; HOOPER, K. J.; HUNTER, J. K.; MOSHER, W. D.; PIRELLI, G. J.
476 Agronomic biofortification with selenium: Effects on whole blood selenium and humoral immunity in
477 beef cattle. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam v. 164, n. 3, p. 184-190, 2011.
- 478 JAHANIAN, R. KHALIFEH-GHOLI, M. Marginal deficiencies of dietary arginine and methionine
479 could suppress growth performance and immunological responses in broiler chickens. *Journal of*
480 *Animal Physiology and Animal Nutrition*, Berlin v. 102, n. 1, p. e11-e20, 2018.
- 481 JIAO, X.; MA, W.; CHEN, Y.; LI, Z. Effects of amino acids supplementation in low crude protein
482 diets on growth performance, carcass traits and serum parameters in finishing gilts. *Animal Science*
483 *Journal*, Sendai v. 87, n. 10, p. 1252-1257, 2016.
- 484 KNORR, M.; PATINO, H. O.; SILVEIRA, A. L. F.; MÜHLBACH, P. R. F.; MALLMANN, G. M.;
485 MEDEIROS, F. S. Desempenho de novilhos suplementados com sais proteinados em pastagem nativa.
486 *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília v. 40, n. 8, p. 783-788, 2005.
- 487 KUBINSKA, M.; TYKALOWSKI, B.; KONCICKI, A.; JANKOWSKI, J. Biochemical and
488 immunological responses of young turkeys to vaccination against *Ornithobacterium rhinotracheale*
489 and different levels of dietary methionine. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, Olsztyn v. 18, n. 4,
490 p. 807-816, 2015.
- 491 KUINCHTNER, A.; BURIOL, G. A. Clima do estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação
492 climática de Köppen e Thornthwaite. *Disciplinarum Scientia*, Santa Maria v. 2, n. 1, p. 171-182, 2001.
- 493 LOWMAN, B. G.; SCOTT, N.; SOMERVILLE, S. Condition scoring beef cattle. *East of Scotland*
494 *College of Agriculture*, Edinburgh p . 08, 1973.
- 495 MALAFAIA, P.; PEIXOTO, P. V.; GONÇALVES, J. C. S.; MOREIRA, A. L.; COSTA, D. P. B.;
496 CORREA, W. S. Ganho de peso e custos em bovinos de corte submetidos a dois tipos de suplementos
497 minerais. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro v. 24, n. 3, p. 160-164, 2004.
- 498 MANDAL, G. P.; DASS, R. S.; ISORE, D. P.; GARG, A. K.; RAM, G. C. Effect of zinc
499 supplementation from two sources on growth, nutrient utilization and immune response in male
500 crossbred cattle (*Bos indicus x Bos taurus*) bulls. *Animal Feed Science and Technology*, Amsterdam v.
501 138, n. 1, p. 1-12, 2007.

- 502 MAYR, A.; BACHMANN, P. A.; BIBRACK, B. M.; WITHMANN, G. Virologische
503 Arbeitsmethoden - Sicherheit bei virologischen arbeiten - Biomestrische Methoden. *Gustav Fischer*
504 *Verlag*, Stuttgart v. 4, p. 666, 1982.
- 505 McMENIMAN, N. P. Methods of estimating intake of grazing animal. *Anais Reunião Anual da*
506 *Sociedade Brasileira de Zootecnia*, Juiz de Fora v. 34, p. 131-168, 1997.
- 507 MENEGAZ, A. L.; LOBATO, J. F. P.; PEREIRA, A. C. Influência do manejo alimentar no ganho de
508 peso e no desempenho reprodutivo de novilhas de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa v. 37,
509 n. 10, p. 1844-1852, 2008.
- 510 MINSON, D. J. **Forage in ruminant nutrition**. London: Academic Press, 1990. 483p.
- 511 MORAES, E. H. B. K.; PAULINO, M. F.; ZERVOUDAKIS, J. T.; FILHO, S. C. V.; MORAES, K. A.
512 K. Avaliação qualitativa da pastagem diferida de *Brachiaria decumbens* Stapf., sob pastejo, no
513 período da seca, por intermédio de três métodos de amostragem. *Revista Brasileira de Zootecnia*,
514 Viçosa v. 34, n. 1, p. 30-35, 2005.
- 515 NEMEC, L. M.; RICHARDS, J. D.; ATWELL, C. A.; DIAZ, D. E.; ZANTON, G. I.; GRESSLEY, T.
516 F. Immune responses in lactating Holstein cows supplemented with Cu, Mn, and Zn as sulfates or
517 methionine hydroxy analogue chelates. *Journal Dairy Science*, Champaign v. 95, n. 8, p. 4568-4577,
518 2012.
- 519 OSORIO, J. S.; JI, P.; DRACKLEY, J. K.; LUCHINI, D.; LOOR, J. J. Supplemental Smartamine M
520 or MetaSmart during the transition period benefits postpartal cow performance and blood neutrophil
521 function. *Journal Dairy Science*, Champaign v. 96, n. 10, p. 6248–6263, 2013.
- 522 OSORIO, J. S.; TREVISI, E.; JI, P.; DRACKLEY, J. K.; LUCHINI, D.; BERTONI, G.; LOOR, J. J.
523 Biomarkers of inflammation, metabolism, and oxidative stress in blood, liver, and milk reveal a better
524 immunometabolic status in periparturient cows supplemented with Smartamine M or MetaSmart. *Journal*
525 *Dairy Science*, Champaign v. 97, n. 12, p. 7437–7450, 2014.
- 526 OSPINA, H. O.; MEDEIROS, F. S. Suplementação a pasto: uma alternativa para produção de novilho
527 precoce. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DA CARNE BOVINA: DA PRODUÇÃO AO
528 MERCADO CONSUMIDOR, 2003, São Borja. **ANAIS**. São Borja, 2003. p. 83-115.
- 529 PAUL, S. S.; DEY, A. Nutrition in health and immune function of ruminantes. *Indian Journal of*
530 *Animal Sciences*, New Delhi v. 2, n. 85, p. 103-112, 2015.
- 531 SODER, K. J.; HOLDEN, L. A. Lymphocyte proliferation response of lactating dairy cows fed
532 varying concentrations of rumen-protected methionine. *Journal Dairy Science*, Champaign v. 82, n. 9,
533 p. 1935-1942, 1999.

- 534 SIEDLER, B. S. Avaliação de uma vacina de aplicação intravaginal contra o Herpesvírus bovino tipo
535 5 (BoHV-5) associada a subunidade B recombinante da enterotoxina Termolábil de *Escherichia coli*
536 (rLTB). Pelotas: UFPEL, 2012. 76p. Dissertação (Mestrado em Ciências), Faculdade de Veterinária,
537 Universidade Federal de Pelotas, 2012.
- 538 SOEST, P. J. V. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University, 1994. 476p.
- 539 SPEARS, J. W.; HARVEY, R. W.; BROWN, T. T. Effects os zinc methionine and zinc oxide on
540 performance, blood characteristics, and antibody titer response to viral vaccination in stressed feeder
541 calves. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Chicago v. 199, n. 12, p. 1731-1733,
542 1991.
- 543 SPEARS, J. W.; KEGLEY, E. B. Effect of zinc source (zinc oxide vs zinc proteinate) and level on
544 performance, carcass characteristics, and immune response of growing and finishing steers. *Journal of*
545 *Animal Science*, Champaign v. 80, n. 10, p. 2747-2752, 2002.
- 546 STREK, E. V.; KÄMPF, N.; KLAMT, E. Atualização e classificação taxonômica das unidades de
547 mapeamento do levantamento de reconhecimento dos solos do estado do Rio Grande do Sul.
548 *Informativo Emater*, Porto Alegre v. 16, n. 9, p. 01-05, 1999.
- 549 SUTTLE, N. F. The mineral nutrition of livestock. *CABI Head Office*, Oxofordshire v. 4, p. 377-426,
550 2010.
- 551 SWECKER, W. S. Trace mineral feeding and assessment. *The Veterinary Clinics of North America.*
552 *Food Animal Practice*, Philadelphia v. 30, n. 3, p. 671-688, 2014.
- 553 THOMAS, O. O.; LANGFORD, W. J. Methionine hydroxy analog in beef cows supplements given
554 pre and post calving. *Western Section American Society of Animal Science*, Champaign v. 29, n. 1, p.
555 454-455, 1978.
- 556 US GOVERNMENT PRINTING OFFICE. Code of Federal Regulations. *Animal and animal products.*
557 9 CFR 113.215. Bovine virus diarrhea vaccine, killed virus. v.1, chapter I, subchapter E, part 113,
558 section 113.215/216. Disponível em: [http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2012-title9-vol1/xml/CFR-](http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2012-title9-vol1/xml/CFR-2012-title9-vol1sec113-215.xml)
559 [2012-title9-vol1sec113-215.xml](http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2012-title9-vol1/xml/CFR-2012-title9-vol1sec113-215.xml)
- 560 VAILATI-RIBONI, M.; ZHOU, Z.; JACOMETO, C. B.; MINUTI, A.; TREVISI, E.; LUCHINI, D.
561 N.; LOOR, J. J. Supplementation with rumen-protected methionine or choline during the transition
562 period influences whole-blood immune response in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy*
563 *Science*, Champaign v. 100, n. 5, p. 3958-3968, 2017.

- 564 WATERMAN, R. C.; UJAZDOWSKI, V. L.; PETERSEN, M. K. Effects of rumen-protected
565 methionine on plasma amino acid concentrations during a period of weight loss for late gestating beef
566 heifers. *Amino Acids*, Wien v. 43, n. 5, p.2165-2177, 2012.
- 567 ZHOU, Z.; BULGARI, O.; VAILATI-RIBONI, M.; TREVISI, E.; BALLOU, M. A.; LUCHINI, D.
568 N.; LOOR, J. J. Rumen-protected methionine compared with rumen-protected choline improves
569 immunometabolic status in dairy cows during the peripartal period. *Journal of Dairy Science*,
570 Champaign v. 99, n. 11, p. 8956-8969, 2016.

4 Considerações Finais

Os resultados obtidos através da revisão na literatura recente permitem concluir que as principais vantagens da suplementação de metionina protegida em bovinos, relacionadas a reprodução se mostram ligadas aos primeiros dias de implantação embrionária no ambiente uterino. Frente a resposta imune, os resultados promissores estão relacionados aos benefícios na imunidade inata, com marcado aumento na capacidade fagocitária de polimorfonucleares, assim como um importante efeito antioxidante mediado por produtos originários da metionina. Já quando avaliadas as influências em produtividade, a correlação mais evidente é o incremento em proteína no leite de vacas suplementadas com metionina. Em bovinos de corte, ainda são escassos os estudos que comprovem os reais benefícios desta suplementação estratégica.

O experimento conduzido neste trabalho concluiu que no ponto de vista de desempenho produtivo na categoria animal estudada, novilhas nulíparas, não houveram incrementos satisfatórios. Em relação aos parâmetros imunológicos avaliados, o maior aporte de minerais ou metionina não foi convertido em aumento da resposta imune humoral, evidenciado pela ausência de diferenças frente a soroconversão de animais vacinados ou pelos níveis totais de imunoglobulinas específicas.

Referências

ABDELMEGEID, M. K.; VAILATI-RIBONI, M.; ALHARTHI, A.; et al. Supplemental methionine, choline, or taurine alter in vitro gene network expression of polymorphonuclear leukocytes from neonatal Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 4, p. 3155-3162, 2017.

ACOSTA, D. A. V.; DENICOL, A. C.; TRIBULO, P.; et al. Effects of rumen-protected methionine and choline supplementation on the preimplantation embryo in Holstein cows. **Theriogenology**, v. 85, n. 9, p. 1669-1679, 2016.

ACOSTA, D. A. V.; RIVELLI, M. I.; SKENANDORE, C. S.; et al. Effects of rumen-protected methionine and choline supplementation on steroidogenic potential of the first postpartum dominant follicle and expression of immune mediators in Holstein cows. **Theriogenology**, v. 96, n. 1, p. 01-09, 2017.

ALONSO, L.; MAQUIVAR, H.; GALINA, C. S.; et al. Effect of ruminally protected Methionine on the productive and reproductive performance of grazing *Bos indicus* heifers raised in the humid tropics of Costa Rica. **Tropical Animal Health and Production**, v. 40, n. 8, p. 667-672, 2008.

ANDRIEU, S. Is there a role for organic trace element supplements in transition cow health? **Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 77-83, 2008.

ANTONIAZZI, A. Q.; HENKES, L. E.; OLIVEIRA, J. F. C.; et al. Função do interferon-tau durante o reconhecimento materno da gestação em ruminantes. **Ciência Rural**, v. 41, n. 1, p. 176-185, 2011.

BARCELLOS, J. O. J.; PRATES, E. R.; OSPINA, H. Suplementação mineral de ruminantes nos campos nativos do Rio Grande do Sul: uma abordagem aplicada à pecuária de corte. In: ENCONTRO ANUAL SOBRE NUTRIÇÃO DE RUMINANTES DA UFRGS, 1999, São Gabriel. **ANAIS**. São Gabriel, 1999. p. 81-110.

BATISTEL, F.; ARROYO, J. M.; BELLINGERI, A.; et al. Ethyl-cellulose rumen-protected methionine enhances performance during the periparturient period and early lactation in Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 9, p. 7455-7467, 2017.

BATISTEL, F.; ARROYO, J. M.; GARCES, C. I. M.; 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.

BETTERIDGE, K. J.; EAGLESOME, M. D.; RANDALL, G. C.; et al. Collection, description and transfer of embryos from cattle 10-16 days after oestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 59, n. 1, p. 205-216, 1980.

BINNIE, M. A.; BARLOW, K.; JOHNSON, V.; et al. Red meats: time for a paradigm shift in dietary advice. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 445-451, 2014.
BROSNAN, J. T.; BROSNAN, M. E. The sulfur-containing amino acids: an overview. **The Journal of Nutrition**, v. 136, n. 6, p. 1636S-1640S, 2006.

CALDER, P. C.; YAQOUB, P. **Metabolic & Therapeutic Aspects of Amino Acids in Clinical Nutrition**. Boca Raton: CRC Press, 2003. 776p.

CERONE, S. I.; SANSINANEA, A. S.; AUZA, N. J. Copper deficiency alters the immune response of bovine. **Nutrition Research**, v. 15, n. 9, p. 1333-1341, 1995.

CHEN, Z. H.; BRODERICK, G. A.; LUCHINI, N. D.; 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.

CLANTON, D. C.; ENGLAND, M. E. Methionine hydroxy analog in supplements for lactating beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 51, n. 3, p. 539-543, 1980.

CLEMENTS, A. R.; IRELAND, F. A.; FREITAS, T.; 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.

COCHRAN, R. C.; KÖSTER, H. H.; OLSON, K. C.; et al. Supplemental protein sources for grazing beef cattle. In: ANNUAL FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 1998, Gainesville. **ABSTRACTS**. Gainesville, 1998. p. 123-136.

DOMINGUEZ, J. H.; LOPES, M. G.; MACHADO, F. A.; et al. Efeito da suplementação de metionina sobre o ganho de peso e diâmetro folicular em novilhas de corte submetidas a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo. In: XII SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION ANIMAL, 2017, Cordoba. **ABSTRACTS**. IRAAC, Cordoba, 2017. p. 373.

DUMMER, L. A.; CONCEIÇÃO, F. R.; NIZOLI, L. Q.; et al. Cloning and expression of a truncated form of envelope glycoprotein D of Bovine herpesvirus type 5 in methylotrophic yeast *Pichia pastoris*. **Journal of Virological Methods**, v. 161, n. 1, p. 84-90, 2009.

FAO. **Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura** (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2017. Disponível em: <<http://nacoesunidas.org/secao/desenvolvimento-sustentavel>>. Acesso em: 25/01/2018.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. 364p.

GRAULET, B.; RICHARD, C.; ROBERT, J. C. Methionine availability in plasma of dairy cows supplemented with methionine hydroxy analog isopropyl ester. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 10, p. 3640-3649, 2005.

GRIMBLE, R. F. The effects of sulfur amino acid intake on immune function in humans. **The Journal of Nutrition**, v. 136, n. 6, p. 1660S-1665S, 2006.

GROEBNER, A. E.; RUBIO-ALIAGA, I.; SCHULKE, K.; et al. Increase of essential amino acids in the bovine uterine lumen during preimplantation development. **Reproduction**, v. 141, n. 5, p. 685-695, 2011.

GROSSMAN, J.; ARANOVICH, S.; CAMPELO, E. C. B. Grasslands of Brazil. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 1965, São Paulo. **ABSTRACTS**. São Paulo, 1965. p. 39-47.

HALL, J. A.; BOBE, G.; VORACHEK, W. R.; et al. Effects of feeding selenium-enriched alfalfa hay on immunity and health of weaned beef calves. **Biological Trace Element Research**, v. 156, n. 1-3, p. 96-110, 2013.

HALL, J.A.; HARWELL, A. M.; VAN SAUN, R. J.; et al. Agronomic biofortification with selenium: Effects on whole blood selenium and humoral immunity in beef cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 164, n. 3, p. 184-190, 2011.

HAASE, H.; MOCCHEGIANI, E.; RINK, L. Correlation between zinc status and immune function in the elderly. **Biogerontology**, v. 7, n. 5, p. 421-428, 2006.

HUGENTOBLER, S. A.; DISKIN, M. G.; LEESE, H. J.; et al. Amino acids in oviduct and uterine fluid and blood plasma during the estrous cycle in the bovine. **Molecular Reproduction and Development**, v. 74, n. 4, p. 445-454, 2007.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2004. Disponível em: <<http://ww2.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias21052004biomashtml.shtm>>. Acesso em: 25/01/2018.

IKEDA, S.; SUGIMOTO, M.; KUME, S. Importance of methionine metabolism in morula-to-blastocyst transition in bovine preimplantation embryos. **The Journal of Reproduction and Development**, v. 58, n. 1, p. 91-97, 2012.

JACKSON, A. Amino acids: essential and non-essential? **The Lancet**, v. 321, n. 8332, p. 1034-1037, 1983.

JACOMETO, C. B.; ZHOU, Z.; LUCHINI, D.; et al. Maternal rumen-protected methionine supplementation and its effect on blood and liver biomarkers of energy metabolism, inflammation, and oxidative stress in neonatal Holstein calves. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 8, p. 6753-6763, 2016.

JAHANIAN, R. KHALIFEH-GHOLI, M. Marginal deficiencies of dietary arginine and methionine could suppress growth performance and immunological responses in broiler chickens. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, n. 1, p. e11-e20, 2018.

JIAO, X.; MA, W.; CHEN, Y.; et al. Effects of amino acids supplementation in low crude protein diets on growth performance, carcass traits and serum parameters in finishing gilts. **Animal Science Journal**, v. 87, n. 10, p. 1252-1257, 2016.

KNORR, M.; PATINO, H. O.; SILVEIRA, A. L. F.; et al. Desempenho de novilhos suplementados com sais proteinados em pastagem nativa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 8, p. 783-788, 2005.

KUBINSKA, M.; TYKALOWSKI, B.; KONCICKI, A.; JANKOWSKI, J. Biochemical and immunological responses of young turkeys to vaccination against *Ornithobacterium rhinotracheale* and different levels of dietary methionine. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 18, n. 4, p. 807-816, 2015.

KUINCHTNER, A.; BURIOL, G. A. Clima do estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação climática de Köppen e Thornthwaite. **Disciplinarum Scientia**, v. 2, n. 1, p. 171-182, 2001.

LI, P.; YIN, Y. L.; LI, D.; et al. Amino acids and immune function. **The British Journal of Nutrition**, v. 98, n. 2, p. 237-252, 2007.

LOBATO, J. F.; FREITAS, A. K.; DEVINCENZI, T.; et al. Brazilian beef produced on pastures: sustainable and healthy. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 336-345, 2014.

LOWMAN, B. G.; SCOTT, N.; SOMERVILLE, S. Condition scoring beef cattle. **East of Scotland College of Agriculture**, p. 08, 1973.

MALAFAIA, P.; PEIXOTO, P. V.; GONÇALVES, J. C. S.; MOREIRA, A. L.; COSTA, D. P. B.; CORREA, W. S. Ganho de peso e custos em bovinos de corte submetidos a dois tipos de suplementos minerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 3, p. 160-164, 2004.

MANDAL, G. P.; DASS, R. S.; ISORE, D. P.; et al. Effect of zinc supplementation from two sources on growth, nutrient utilization and immune response in male crossbred cattle (*Bos indicus* x *Bos taurus*) bulls. **Animal Feed Science and Technology**, v. 138, n. 1, p. 1-12, 2007.

MARTÍNEZ, Y.; LI, X.; LIU, G.; et al. The role of methionine on metabolism, oxidative stress and diseases. **Amino Acids**, v. 49, n. 12, p. 2091-2098, 2017.

MARTINOV, M. V.; VITVITSKY, V. M.; BANERJEE, R.; et al. The logic of the hepatic methionine metabolic cycle. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1804, n. 1, p. 89-96, 2010.

MATTIOLI, G. A.; FAZZIO, L. E.; PICCO, S. J.; et al. **Nutrición mineral y vitamínica de bovinos**. La Plata: Gráfica Barsa S.R.L, 2013. 264p.

MAYR, A.; BACHMANN, P. A.; BIBRACK, B. M.; et al. Virologische Arbeitsmethoden - Sicherheit bei virologischen arbeiten - Biomestrische Methoden. **Gustav Fischer Verlag**, v. 4, p. 666, 1982.

McDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. Califórnia: Academic Press, 1992. 524p.

McDOWELL, L. R. **Vitamins in animal and human nutrition**. Iowa: Iowa State University Press, 2000. 793p.

McMENIMAN, N. P. Methods of estimating intake of grazing animal. **Anais Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 131-168, 1997.

MENEGAZ, A. L.; LOBATO, J. F. P.; PEREIRA, A. C. Influência do manejo alimentar no ganho de peso e no desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 10, p. 1844-1852, 2008.

METAYER, S.; SEILIEZ, I.; COLLIN, A.; et al. Mechanisms through which sulfur amino acids control protein metabolism and oxidative status. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 19, n. 4, p. 207-215, 2008.

MINSON, D. J. **Forage in ruminant nutrition**. London: Academic Press, 1990. 483p.

MORAES, E. H. B. K.; PAULINO, M. F.; ZERVOUDAKIS, J. T.; FILHO, S. C. V.; MORAES, K. A. K. Avaliação qualitativa da pastagem diferida de *Brachiaria decumbens* Stapf., sob pastejo, no período da seca, por intermédio de três métodos de amostragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 1, p. 30-35, 2005.

NEMEC, L. M.; RICHARDS, J. D.; ATWELL, C. A.; et al. Immune responses in lactating Holstein cows supplemented with Cu, Mn, and Zn as sulfates or methionine hydroxy analogue chelates. **Journal Dairy Science**, v. 95, n. 8, p. 4568-4577, 2012.

NICIURA, S. C. M.; SARAIVA, N. Z. **Epigenética: Bases moleculares, efeitos na fisiologia e na patologia, e implicações para a produção animal e vegetal**. Brasília: Embrapa, 2014. 286p.

NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J. L.; SILVA, P. J.; et al. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 1, p. 01-29, 2000.

National Research Council. **Nutrients Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition**. Washington: The National Academies Press, 2001. 408p.

OSPINA, H. O.; MEDEIROS, F. S. Suplementação a pasto: uma alternativa para produção de novilho precoce. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DA CARNE BOVINA: DA PRODUÇÃO AO MERCADO CONSUMIDOR, 2003, São Borja. **ANAIS**. São Borja, 2003. p. 83-115.

OSORIO, J. S.; JI, P.; DRACKLEY, J. K.; et al. Supplemental Smartamine M or MetaSmart during the transition period benefits postpartal cow performance and blood neutrophil function. **Journal of Dairy Science**, v.96, n. 10, p. 6248-6263, 2013.

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

OVERTON, T. R.; YASUI, T. Practical applications of trace minerals for dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 2, p. 416-426, 2014.

PAUL, S. S.; DEY, A. Nutrition in health and immune function of ruminants. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 2, n. 85, p. 103-112, 2015.

PEÑAGARICANO, F.; SOUZA, A. H.; CARVALHO, P. D.; et al. Effect of maternal methionine supplementation on the transcriptome of bovine preimplantation embryos. **PLoS One**, v. 8, n. 8, p. e72302, 2013.

REIS, W. L. S.; DETMANN, E.; BATISTA, E. D.; et al. Effects of ruminal and post-ruminal protein supplementation in cattle fed tropical forages on insoluble fiber degradation, activity of fibrolytic enzymes, and the ruminal microbial community profile. **Animal Feed Science And Technology**, v. 218, p. 01-16, 2016.

RIBEIRO, E. S.; GRECO, L. F.; BISINOTTO, R. S.; et al. Biology of preimplantation conceptus at the onset of elongation in dairy cows. **Biology of Reproduction**, v. 94, n. 4, p. 01-18, 2016.

ROBERTS, R. M.; CHEN, Y.; EZASHI, T.; et al. Interferons and the maternal-conceptus dialog in mammals. **Seminars in Cell & Developmental Biology**, v. 19, n. 2, p. 170-177, 2008.

ROSADO JÚNIOR, A. G.; LOBATO, J. F. P. Implementation of a performance indicators system in a beef cattle company. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 1, p. 1372-1380, 2010.

SAKER, K. E. Nutrition and immune function. **The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 36, n. 6, p. 1199-1224, 2006.

SCHWAB, C. G. Balancing diets for amino acids: nutritional, environmental and financial implication. In: TRI-STATE DAIRY NUTRITION CONFERENCE, 2010, Fort Wayne. **ABSTRACTS**. The Ohio State University, Columbus, 2010. p. 01-13.

SHARMA, M. C.; JOSHI, C.; PATHAK, N. N.; et al. Copper status and enzyme, hormone, vitamin and immune function in heifers. **Research in Veterinary Science**, v. 79, n. 2, p. 113-123, 2005.

SIEDLER, B. S. **Avaliação de uma vacina de aplicação intravaginal contra o Herpesvírus bovino tipo 5 (BoHV-5) associada a subunidade B recombinante da enterotoxina Termolábil de *Escherichia coli* (rLTB)**. Pelotas: UFPEL, 2012. 76p. Dissertação (Mestrado em Ciências), Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2012.

SKENANDORE, C. S.; ACOSTA, D. A. V.; ZHOU, Z.; et al. Effects of rumen-protected methionine and choline supplementation on vaginal discharge and uterine cytology of Holstein cows. **International Journal of Veterinary Science and Medicine**, v. 5, n. 1, p. 01-07, 2017.

SODER, K. J.; HOLDEN, L. A. Lymphocyte proliferation response of lactating dairy cows fed varying concentrations of rumen-protected methionine. **Journal Dairy Science**, v. 82, n. 9, p. 1935-1942, 1999.

SOEST, P. J. V. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University, 1994. 476p.

SOUZA, A. H.; CARVALHO, P. D.; DRESCH, A. R.; et al. Effect of methionine supplementation during postpartum period in dairy cows II: embryo quality. **Journal of Dairy Science**, v. 95 (E-Suppl. 1), 2012.

SPEARS, J. W.; HARVEY, R. W.; BROWN, T. T. Effects os zinc methionine and zinc oxide on performance, blood characteristics, and antibody titer response to viral vaccination in stressed feeder calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 12, p. 1731-1733, 1991.

SPEARS, J. W.; KEGLEY, E. B. Effect of zinc source (zinc oxide vs zinc proteinate) and level on performance, carcass characteristics, and immune response of growing and finishing steers. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 10, p. 2747-2752, 2002.

SPENCER, T. E.; BAZER, F. W. Developmental biology and role of endometrial glands in uterine function. **Havemeyer Foundation Monograph Series**, v. 10, n.1, p. 17-19, 2003.

SPENCER, T. E.; JOHNSON, G. A.; BURGHARDT, R. C.; et al. Progesterone and placental hormone actions on the uterus: insights from domestic animals. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 1, p. 02-10, 2004.

STOVER, P. J.; DURGA, J.; FIELD, M. D.; Folate nutrition and blood-brain barrier dysfunction. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 44, n. 1, p. 146-152, 2017.

STREK, E. V.; KÄMPF, N.; KLAMT, E. Atualização e classificação taxonômica das unidades de mapeamento do levantamento de reconhecimento dos solos do estado do Rio Grande do Sul. **Informativo Emater**, v. 16, n. 9, p. 01-05, 1999.

STURMEY, R. G.; REIS, A.; LEESE, H. J.; et al. Role of fatty acids in energy provision during oocyte maturation and early embryo development. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, n. 3, p. 50-58, 2009.

SUTTLE, N. F. The mineral nutrition of livestock. **CABI Head Office**, v. 4, p. 377-426, 2010.

SWECKER, W. S. Trace mineral feeding and assessment. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 30, n. 3, p. 671-688, 2014.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. 568p.

THOMAS, O. O.; LANGFORD, W. J. Methionine hydroxy analog in beef cows supplements given pre and post calving. **Western Section American Society of Animal Science**, v. 29, n. 1, p. 454-455, 1978.

USDA. **Departamento de Agricultura dos Estados Unidos** (United States Department of Agriculture), 2017. Disponível em:

<<http://www.usdabrazil.org.br/portugues/reports.asp>>. Acesso em: 25/01/2018.

US GOVERNMENT PRINTING OFFICE. Code of Federal Regulations. **Animal and animal products**. 9 CFR 113.215. Bovine virus diarrhea vaccine, killed virus. v.1, chapter I, subchapter E, part 113, section 113.215/216. Disponível em:

<http://www.gpo.gov/fdsys/pkg/CFR-2012-title9-vol1/xml/CFR-2012-title9-vol1sec113-215.xml>

VAILATI-RIBONI, M.; ZHOU, Z.; JACOMETO, C. B.; et al. Supplementation with rumen-protected methionine or choline during the transition period influences whole-

blood immune response in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 5, p. 3958-3968, 2017.

VYAS, D.; ERDMAN, R. A. Meta-analysis of milk protein yield responses to lysine and methionine supplementation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 10, p. 5011-5018, 2009.

WATERMAN, R. C.; UJAZDOWSKI, V. L.; PETERSEN, M. K. Effects of rumen-protected methionine on plasma amino acid concentrations during a period of weight loss for late gestating beef heifers. **Amino Acids**, v. 43, n. 5, p. 2165-2177, 2012.

WINTERGERST, E. S.; MAGGINI, S.; HORNIG, D. H. Contribution of selected vitamins and trace elements to immune function. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v. 51, n. 4, p. 301-323, 2007.

ZANG, Y.; SAMII, S. S.; PHIPPS, Z. C.; et al. Comparative effects of multiple sources of rumen-protected methionine on milk production and serum amino acid levels in mid-lactation dairy cows. **The Professional Animal Scientist**, v. 33, n. 6, p. 692-699, 2017.

ZHOU, Z.; BULGARI, O.; VAILATI-RIBONI, M.; 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.

ZHOU, Z.; VAILATI-RIBONI, M.; TREVISI, E.; et al. Better postpartal performance in dairy cows supplemented with rumen-protected methionine compared with choline during the peripartal period. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 11, p. 8716-8732, 2016.

Anexo



Pelotas, 05 de outubro de 2017

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada **“Suplementação mineral e metionina protegida da degradação ruminal: resposta imune e desempenho em novilhas de corte”** processo número 23110.004514/2017-49, de responsabilidade de **Geferson Fischer**- que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua complementação pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 02/10/2017.

Finalidade	(X) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	06/10/2017 a 30/06/2019
Espécie/linhagem/raça	Bovina/Brangus
Nº de animais	36
Idade	14 meses
Sexo	Fêmeas
Origem	Estação Experimental Amaricá – Brasão do Pampa Suplementos – São Gabriel - RS

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao **COBALTO** para posterior registro no **COCEPE** (código para cadastro nº CEEA 4514-2017).

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA