LABORATÓRIO DE PESQUISA EM BOVINOS DE LEITE
LPBL
FMVZ - USP

# Metabolismo de carboidratos e proteínas em ruminantes

**Tiago A. Del Valle**

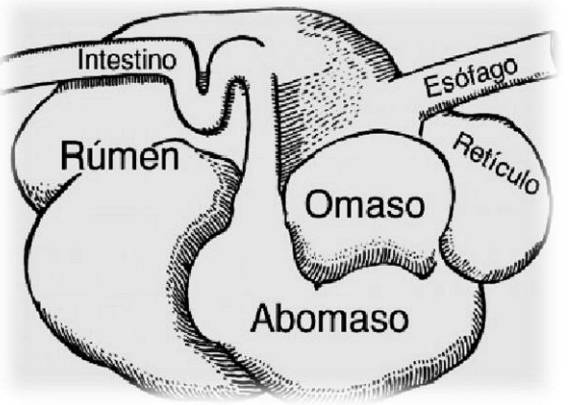
Departamento de Nutrição e Produção Animal

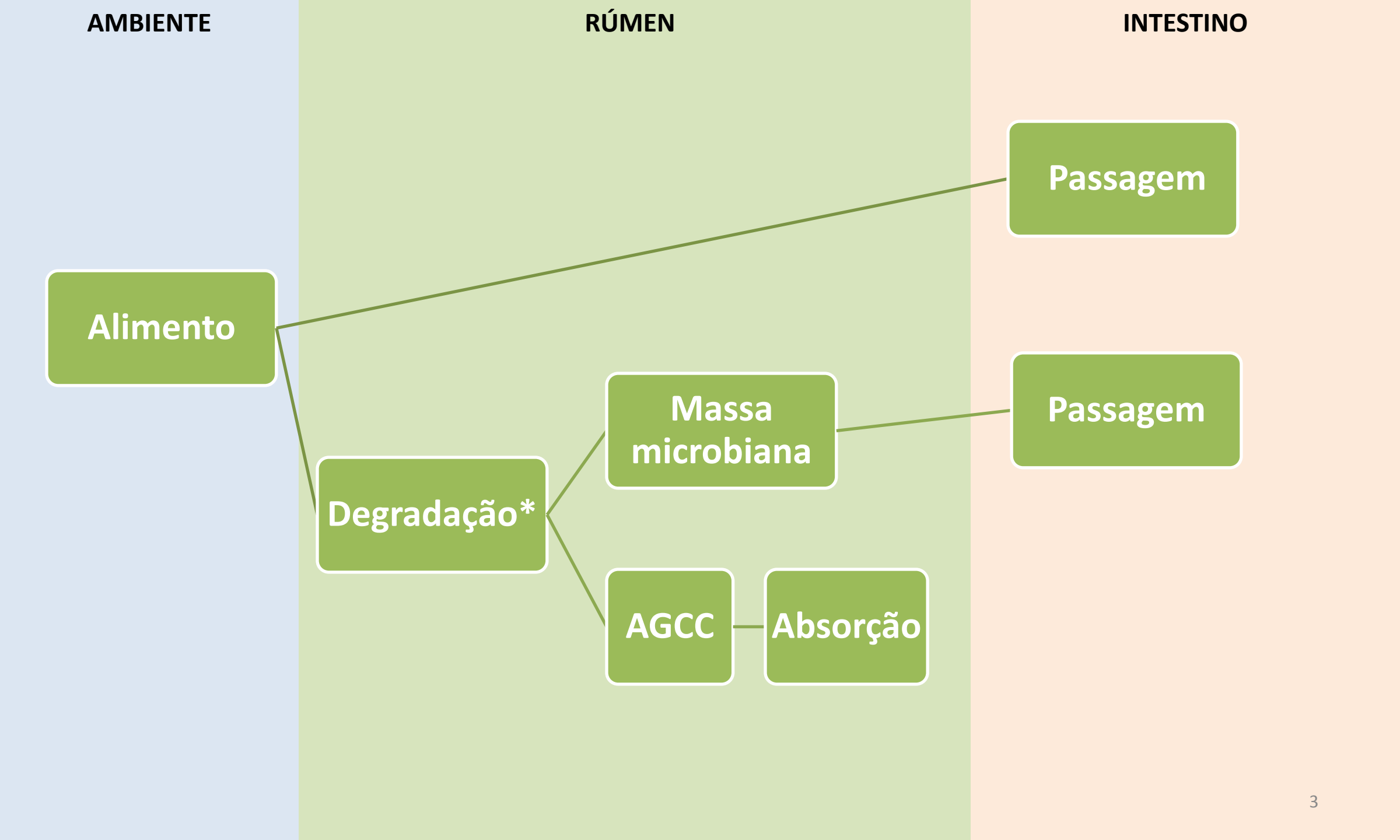
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Universidade de São Paulo

# INTRODUÇÃO

- O que diferencia “ruminantes” de “monogástricos”?
  - Fermentação pré-gástrica:
    - Utilização de carboidratos estruturais como fontes de energia;
      - Atuação física e microbiana.
    - Utilização de compostos nitrogenados não proteicos como fonte proteica.

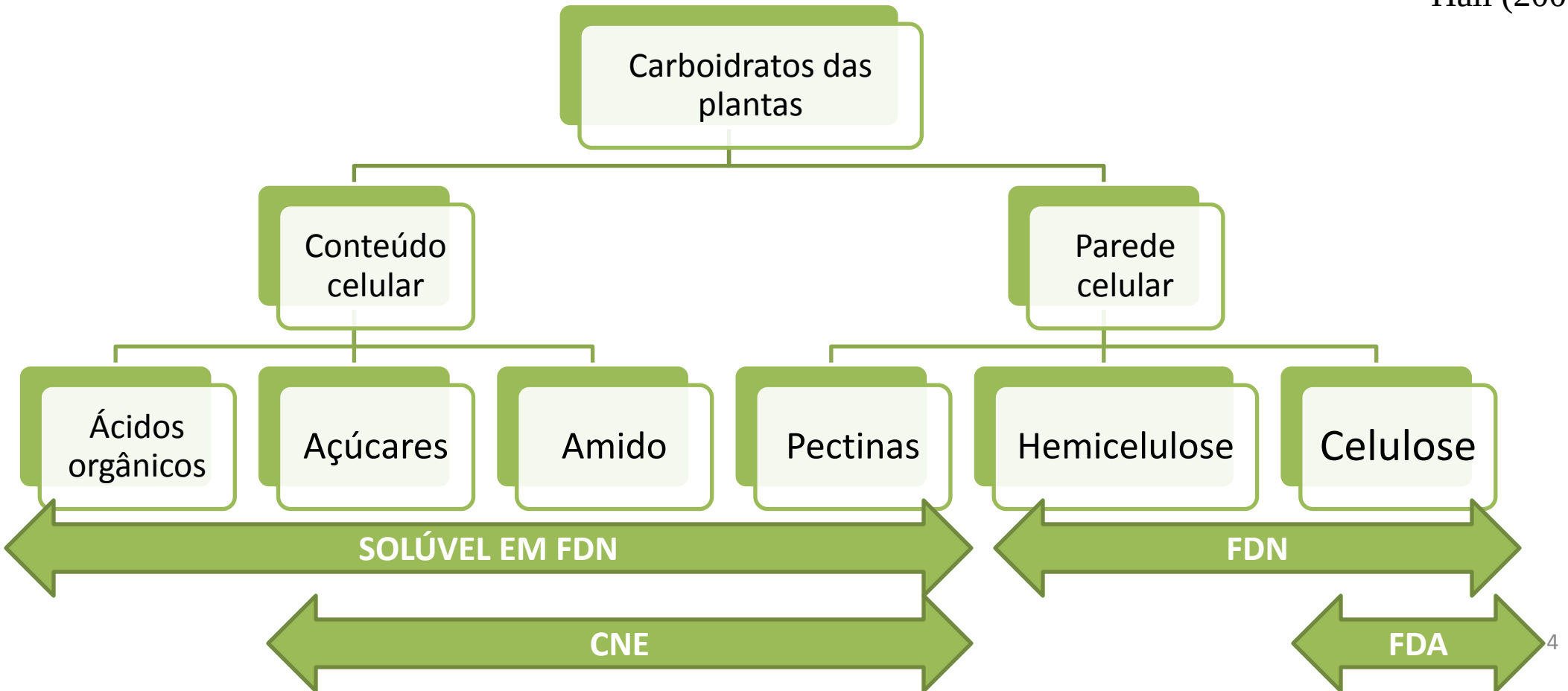



AMBIENTE
RÚMEN
INTESTINO
Passagem
Alimento
Massa microbiana
Passagem
Degradação*
AGCC
Absorção

# METABOLISMO DE CARBOIDATOS

- O que são carboidratos e como eles são divididos?

Hall (2000)

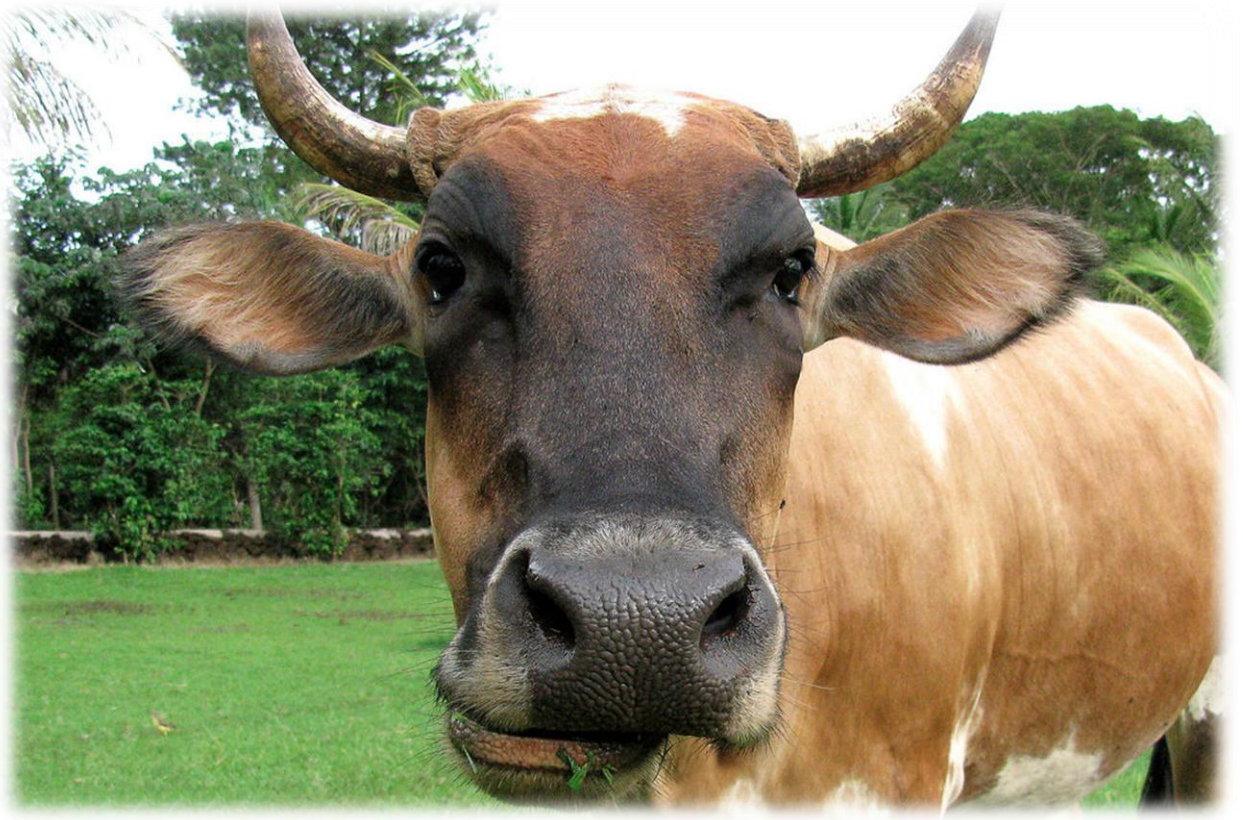


# METABOLISMO DE CARBOIDRATOS

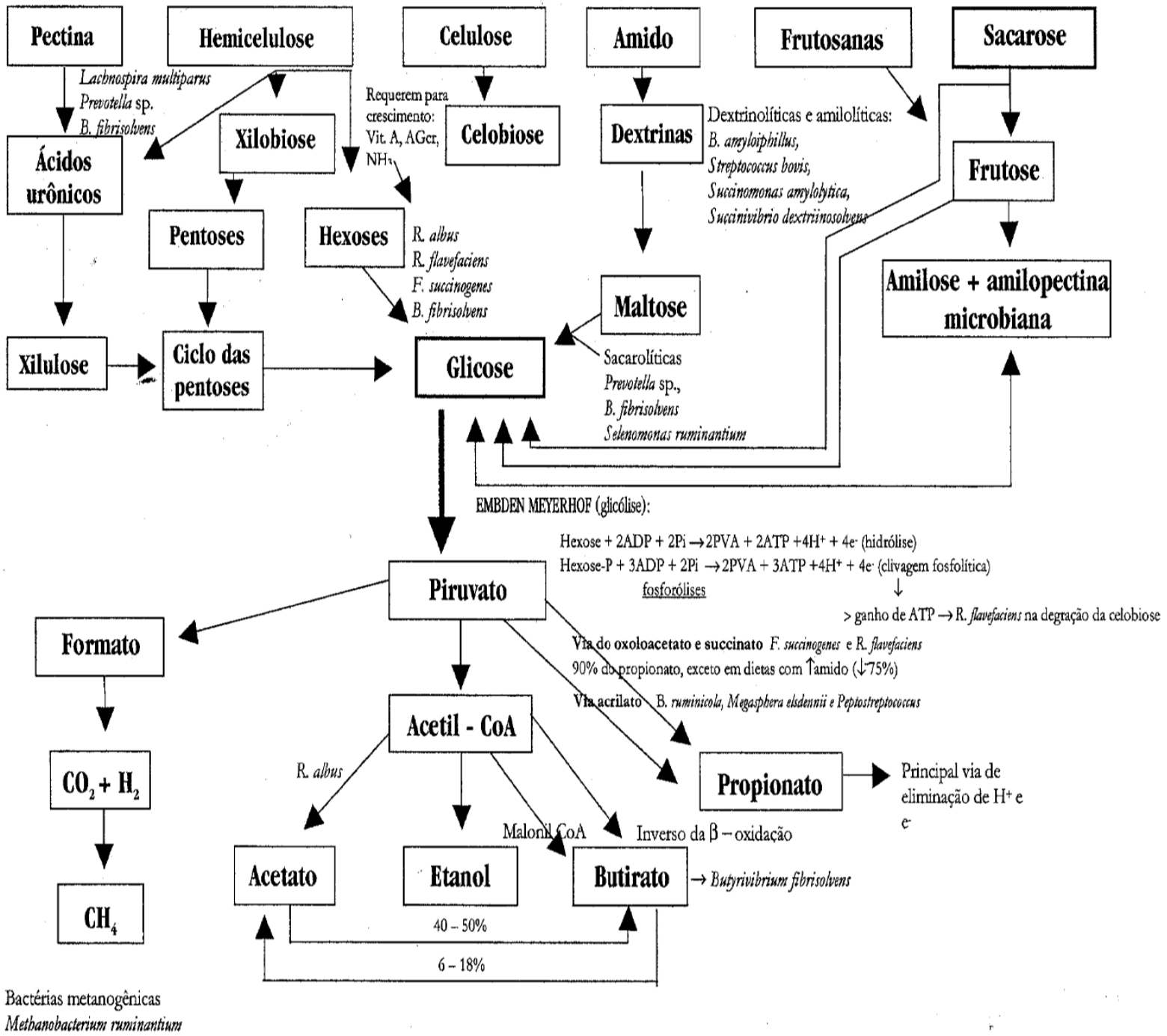
- Fermentação ruminal:
  - Celulases produzidas pelos bactérias celulolíticas:
    - Celulose e hemicelulose → oligossacarídeos e glicose;
  - Amilases das bactérias amololíticas e maltases:
    - Amido e maltose → glicose;

# METABOLISMO DE CARBOIDRATOS

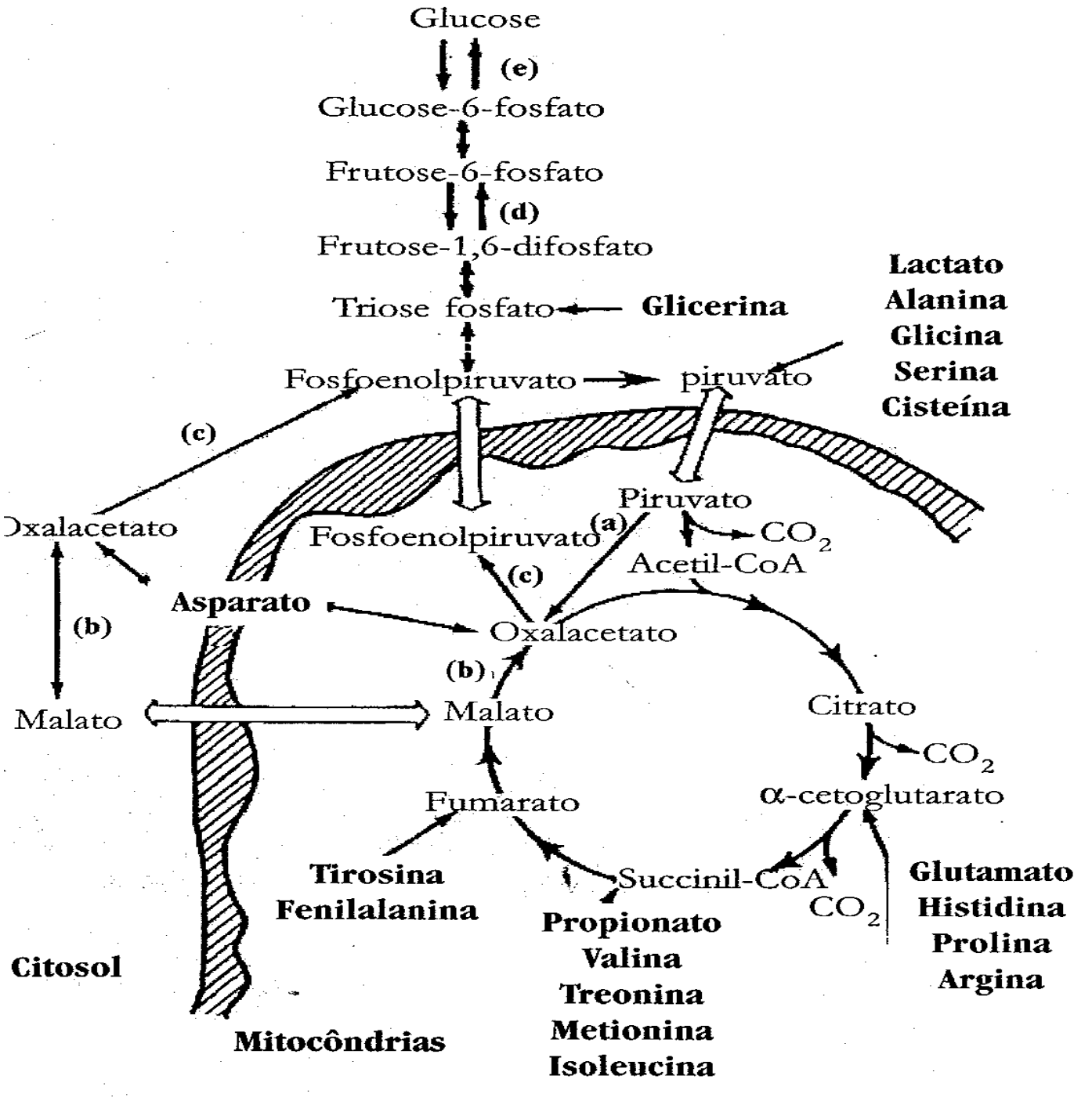
- Condições ruminais:
  - 38 à 40 $^{o}$C;
  - pH de 5,5 à 7,0;
  - Anaerobiose.



# Rotas metabólicas



Só mais um pouquinho...

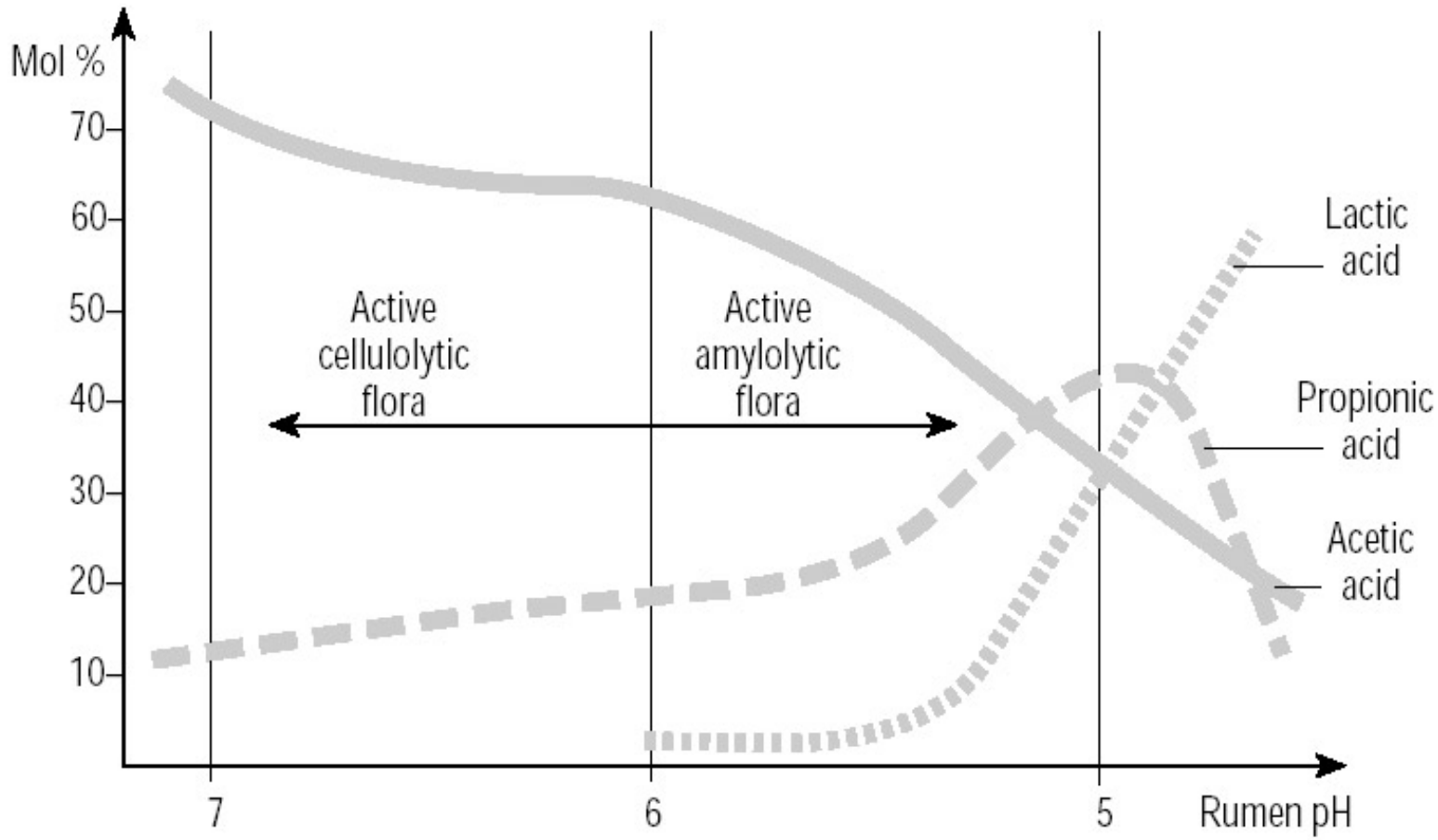


# Produção de AGCC

- Bergman et al. (1990): 75:15:10 à 40:40:20.
- Coelho da Silva (1979):
  - Acetato: 54 a 74%;
  - Propionato: 16 à 27%;
  - Butirato: 6 à 15%;
  - Isobutirato: 1 à 4,5%;
  - Valerato: 1 à 1,7%;
  - Isovalerato: 0,5 à 4%;

# METABOLISMO DE CARBOIDRATOS

- Fatores que afetam a relação entre os AGCC's:



# Razão F:C e proporção de AGCC

| F:C | Acetato | Propionato | Butirato |
|---|---|---|---|
| 100:0 | 71,4 | 16,0 | 7,9 |
| 50:50 | 65,3 | 18,4 | 10,4 |
| 20:80 | 53,6 | 30,6 | 10,7 |

# Produção de AGCC

- Pico de concentração ruminal: 2 à 4 horas após a alimentação;
- Energia:
  - 75%  AGCC;
  - 25% microrganismo, metano e H;
- Energia dos AGCC:
  - Acet.: 209 kcal/mol;
  - Prop.: 386 kcal/mol;
  - But.: 510 kcal/mol.

# Absorção de AGCC

- Absorção passiva no epitélio intestinal:
  - pK ≈ 4,8;
  - Forma não ionizada é volátil e altamente absorvível;
  - Absorção ≈ 88%;
  - ABS.: Lact.< Acet. < Prop. < But

# Digestão intestinal

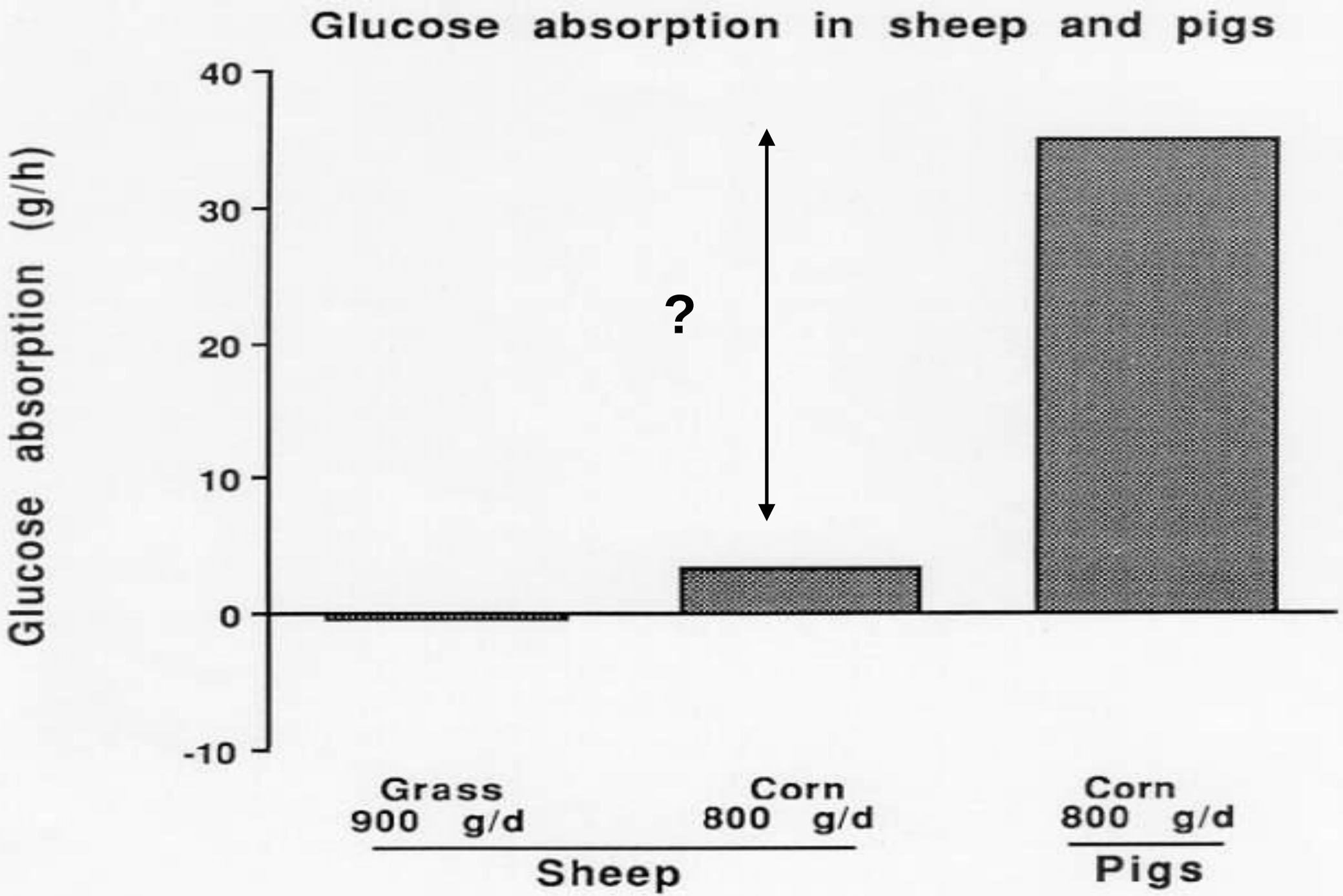
- Enterócito não absorve nada com tamanho maior que uma glicose;
  - Amido: α-amilase pancreática, maltases e isomaltases;
  - Fibra: baixa digestibilidade: ausência de enzimas em mamíferos;
- Intestino grosso: fermentação pós-gástrica: fonte adicional de AGCC.

# Metabolismo pós absortivo de glicose

- A glicose circulante determina a produção de lactose e o volume de leite produzido;

A eficiência de absorção no intestino delgado é maior do que da síntese via AGCC (Owens et al., 1986)

O fluxo líquido de glicose pelo PDV é zero ou negativo (Reynolds, 2002)


Glucose absorption in sheep and pigs
Glucose absorption (g/h)
40
30
20
10
0
-10
?
Grass
900 g/d
Corn
800 g/d
Sheep
Corn
800 g/d
Pigs

# Metabolismo pós-absortivo dos AGCC

- Acetato:
  - Pouco metabolizado no rúmen e no IG durante a absorção:
    - Quase todo o acetato produzido chega ao fígado e é destinado aos tecidos periféricos;
- Butirato: 90% oxidado durante a absorção: gordura do leite;
- Propionato: pouco oxidado durante a absorção ≈ 10%.
  - Fígado remove 85% do propionato do sangue: alta eficiência;
    - Atende de 50 à 75% da exigência de glicose.

# Aspectos práticos da nutrição energética

- Fornecimento de fibra e tamponamento;

| Minimum forage NDF[b] | Minimum dietary NDF | Maximum dietary NFC[c] | Minimum dietary ADF[d] |
|---|---|---|---|
| 19[e] | 25[e] | 44[e] | 17[e] |
| 18 | 27 | 42 | 18 |
| 17 | 29 | 40 | 19 |
| 16 | 31 | 38 | 20 |
| 15[e] | 33 | 36 | 21 |

NRC (2001)

# Aspectos práticos da nutrição energética

| Fatores | | Ajuste 21 % de FDNf | | |
|---|---|---|---|---|
| Forragem - Processamento | Grosseiro | - 2 % | + 4 % | Fino |
| Digestibilidade da forragem | | | + 2 % | Alta |
| Alimentação | Ração completa | - 1,5 % | + 1,5 % | Componentes separados & |
| | Concentrado fornecido 4 x/dia | | | Concentrado fornecido 2 x/dia |
| Degradabilidade amido | | | + 2 % | Moagem fina dos grãos & Alta degradabilidade ruminal do |
| Uso de tamponantes | Sim | - 1 % | | |
| Inclusão de subprodutos fibrosos | Sim | | Variável | |

***Figura 11*** - Porcentagens de ajuste de FDNf definidas em função do manejo da alimentação e composição das rações (Allen, 1996; Varga *et al.*, 1998 e NRC, 2001).

# Aspectos práticos da nutrição energética

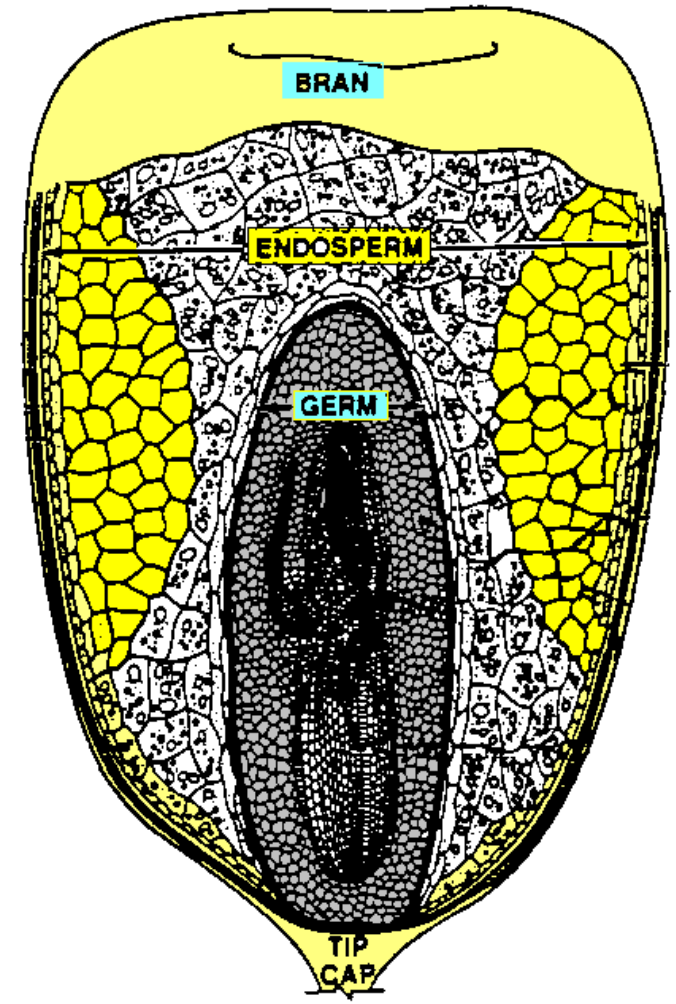
- Fornecimento de fibra e tamponamento;
  - Fibra fisicamente efetiva:
    - O fornecimento de um alimento com maior tamanho de partícula estimula mais a ruminação!
    - Índice de seleção e TMR!
      - Implicações sobre montagem de vagão e mistura...

# Aspectos práticos da nutrição energética

- Forragens de melhor qualidade potencializam o desempenho.
  - Aspectos relacionados à ensilagem;
  - Silagem de milho x silagem de cana-de-açúcar.

# Aspectos práticos da nutrição energética

- Fornecimento de concentrado:
  - Milho floculado e silagem de grão umido;



# Aspectos práticos da nutrição energética

- Aditivos moduladores de fermentação ruminal;

Regular
399 9/10
Plus
409 9/10
Premium
418 9/10
Freeway
NORTH LEFT LANE
SOUTH RIGHT LANE
76
14
6PBM320

# Fermentação ruminal

Maximização da fermentação ruminal

⇩

Degradação da fibra
Fermentação do lactato
Compostos nitrogenados não protéicos

Metano
Degradação Proteína
Absorção de $NH_3$

# Aditivos

- Ionóforos (Monensina, Lasalocida, Salinomicina)
- Enzimas (fibrolíticas, amilolíticas, proteolíticas)
- Óleos essenciais
- Leveduras (*Sacharomyces cerevisiae*)

# Ionóforos

- Mecanismos de ação:
  - ✓ Mudanças na população microbiana
  - ✓ Selecionando bactérias gram-negativas
  - ✓ Inibindo bactérias gram-positivas
  - ✓ Propriedade transportadora de íons
  - ✓ Complexos lipossolúveis

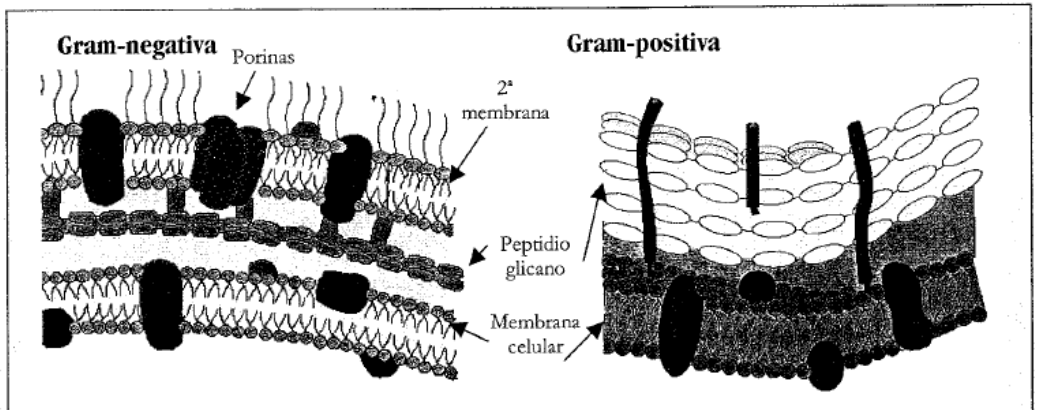
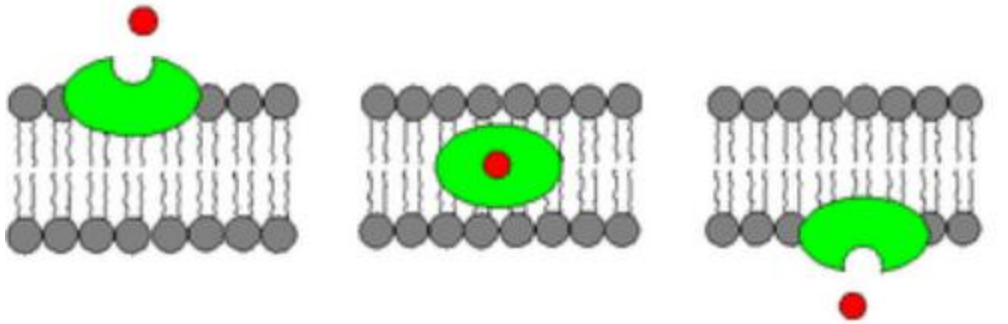
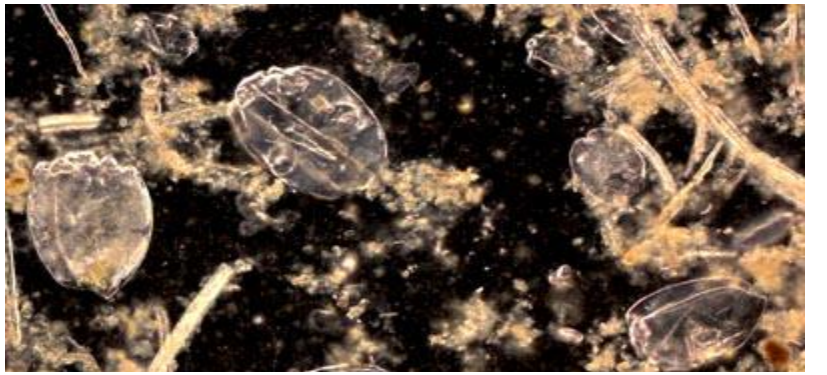



***Figura 1*** - Representação esquemática da parede celular de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (Adaptado de www.conceptdraw.com).



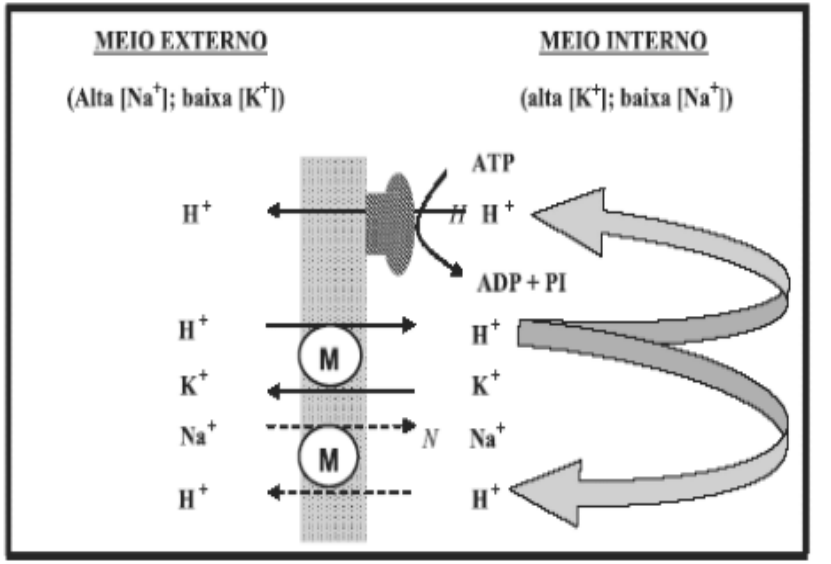
# Ionóforos

- Redução das reservas energéticas e síntese microbiana



↑ Cátions dentro da célula

↑ Pressão osmótica




- Rompimento celular

# Ionóforos

- Modulação da população microbiana do rúmen

- Bactérias Gram-positivas
  - Lático
  - Acético
  - Butírico
  - Hidrogênio

Monensina

- Bactérias Gram-negativas
  - Propiônico
  - Succínico

# Ionóforos e Fermentação Ruminal

(BERGEN & BATES, 1984)

- Alteração nas proporções relativas dos ácidos graxos voláteis.

↑ Prod. de ácido Propiônico

↓ Acetato:Propionato

↓ Prod. de ácido Láctico

**Maior eficiência produtiva**

# Ionóforos e Fermentação Ruminal

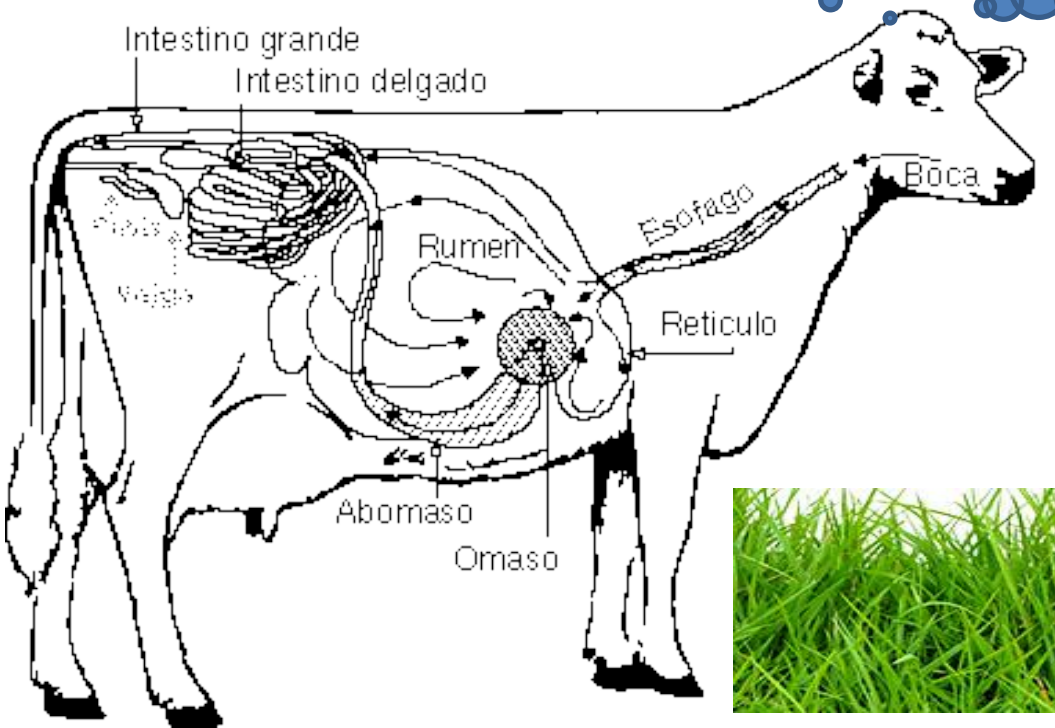
- Efeito da Monensina na regulação do consumo

(Allen & Harrison, 1979)

Enchimento ruminal?

Distensão ruminal?

**DOSES**



J. Dairy Sci. 91:1347–1360
doi:10.3168/jds.2007-0608
© American Dairy Science Association, 2008.

**Table 2.** Summary of effect size estimates of monensin on production in lactating dairy cows derived from meta-analysis

| Outcome measured | Raw weighted mean difference: monensin – control (95% CI) | Change, % | Cows, n | | Trials, n | Trial sites, n | Effect size (95% confidence interval) | $I^2$ (95% uncertainty interval) | Effect size, *P*-value |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Control | Treatment | | | | | |
| DMI (kg/d) | –0.3 (–0.42, –0.18) | –2.3 | 2,243 | 2,202 | 53 | 152 | –0.097 (–0.156, –0.038) | 0 (0–32) | 0.001 |
| Milk yield (kg/d) | 0.7 (0.49, 0.85) | 2.3 | 4,889 | 4,788 | 71 | 255 | 0.123 (0.083, 0.163) | 12 (0–35) | <0.001 |
| Fat (%) | –0.12 (–0.15, –0.08) | –3.1 | 3,460 | 3,406 | 62 | 193 | –0.265 (–0.357, –0.179) | 56 (41–67) | <0.001 |
| Fat yield (kg/d) | –0.002 (–0.012, 0.012) | –0.02 | 2,724 | 2,751 | 47 | 168 | –0.0733 (–0.176, 0.029) | 55 (38–68) | 0.161 |
| Protein (%) | –0.03 (–0.04, –0.02) | –0.9 | 3,460 | 3,406 | 62 | 193 | –0.140 (–0.217, –0.063) | 39 (17–55) | <0.001 |
| Protein yield (kg/d) | 0.016 (0.011, 0.021) | 1.9 | 2,700 | 2,727 | 45 | 166 | 0.131 (0.057, 0.205) | 23 (0–47) | 0.001 |
| Lactose (%) | –0.012 (–0.029, 0.005) | –0.25 | 1,102 | 1,110 | 27 | 75 | –0.027 (–0.460, 0.552) | 26 (0–50) | 0.540 |
| Production efficiency (% energy yield /energy intake) | 2.04 (0.87, 3.13) | 2.5 | 881 | 875 | 14 | 65 | 0.0879 (–0.0058, 0.182) | 0 (0–55) | 0.066 |
| BCS (1 to 5) | 0.03 (0.014, 0.053) | 1.0 | 1,392 | 1,385 | 18 | 90 | 0.176 (0.050, 0.301) | 40 (0–66) | 0.006 |
| BW change (kg/d) | 0.06 (0.021, 0.105) | 68 | 1,240 | 1,231 | 33 | 84 | 0.757 (0.462, 1.053) | 67 (53–77) | <0.001 |

J. Dairy Sci. 91:1347–1360
doi:10.3168/jds.2007-0608
© American Dairy Science Association, 2008.

**Table 2.** Summary of effect size estimates of monensin on plasma/serum/blood parameters in lactating dairy cows derived from meta-analysis

| Outcomes measured | Weighted mean difference for monensin-control (95% CI[1]) | Change, % | Number of cows | | Trials, n | Trial sites, n | Effect size (95% CI[1]) | $I^2$ (95% uncertainty interval) | Effect size *P*-value |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Control | Treatment | | | | | |
| BHBA (μmol/L) | −113.9 (−149.5, −78.3) | −13.4 | 2,071 | 2,171 | 33 | 115 | −0.334 (−0.434, −0.240) | 37 (4–59) | 0.0001 |
| NEFA (μEq/L) | −36.6 (−59.7, −13.5) | −7.1 | 750 | 746 | 24 | 35 | −0.143 (−0.245, −0.041) | 0 (0–45) | 0.006 |
| Glucose (mmol/L) | 0.10 (0.067, 0.13) | 3.2 | 1,731 | 1,715 | 34 | 106 | 0.154 (0.087, 0.221) | 0 (0–39) | 0.0001 |
| Blood urea (mmol/L) | 0.28 (0.21, 0.35) | 6.2 | 1,565 | 1,546 | 23 | 95 | 0.154 (0.083, 0.224) | 0 (0–45) | 0.0001 |
| Acetoacetate (mmol/L) | −9.09 (−19.3, 1.12) | −14.4 | 483 | 601 | 9 | 19 | −0.312 (−0.521, −0.103) | 37 (0–71) | 0.003 |
| Cholesterol (mmol/L) | 0.07 (0.013, 0.134) | 2.6 | 732 | 720 | 6 | 51 | 0.165 (−0.017, 0.347) | 54 (0–82) | 0.076 |
| Calcium (mmol/L) | 0.010 (−0.019, 0.037) | 0.44 | 1,125 | 1,115 | 7 | 77 | 0.052 (−0.031, 0.135) | 0 (0–71) | 0.221 |
| Insulin (ng/L) | 0.096 (−0.027, 0.220) | 17.3 | 256 | 254 | 11 | 11 | 0.100 (−0.074, 0.274) | 0 (0–60) | 0.260 |
| Milk urea (mmol/L) | −0.126 (−0.78, 0.53) | −2.5 | 69 | 69 | 6 | 6 | 0.020 (−0.320, 0.360) | 47 (0–79) | 0.909 |

[1]CI = confidence interval.

# Óleos essenciais

- Essential, Crina, Activo Premium, entre outros.
- Resultados variáveis:
- Investimento maior:
  - 20 a 30 centavos por animal/d *vs* 2 à 3 com monensina;
  - Tendência de mercado.

# Leveduras

- Leveduras: *Sacharomyces cerevisliae*
  - Mecanismo de ação:
    - Estabilização do pH (associação com bactéria que degradam acido latico) e aumento da degradação da fibra (Chaucheyras-Durand et al., 2008);
    - Remoção de O2 do ambiente ruminal (Wallace, 1994; Newbold et al., 1996);
    - Aumento da viabilidade bacteriana (Wallace e Newbold, 1993).
    - Aumento de desempenho com aumento de consumo.

# Enzimas – amilolíticas

- Produção de alfa-amilase;
  - Potencializa a degradação ruminal do amido;
  - Altera o sítio de digestão do amido;
  - Aumenta a digestibilidade no trato total;
  - Ausência de efeitos produtivos na maioria dos trabalhos (Takiya et al., 2017)

# Enzimas – fibrolíticas

| Item | n[1] | RMD[2] (95% CI) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | Control mean | Random effect | *P*-value |
| DMI, kg/d | 36 | 23.2 (2.18) | 0.22 (−0.07, 0.49) | 0.132 |
| Milk yield, kg/d | 36 | 36.0 (3.26) | 0.83 (0.36, 1.30) | 0.001 |
| FCM, kg/d | 26 | 35.7 (3.43) | 0.55 (−0.005, 1.11) | 0.052 |
| FCM/kg of DMI | 21 | 1.59 (0.42) | 0.02 (−0.02, 0.05) | 0.353 |
| Milk fat, % | 36 | 3.59 (0.41) | −0.05 (−0.09, −0.01) | 0.008 |
| Milk fat yield, kg/d | 25 | 1.28 (0.18) | 0.02 (0.001, 0.03) | 0.038 |
| Milk protein, % | 36 | 3.07 (0.18) | 0.002 (−0.02, 0.02) | 0.815 |
| Milk protein yield, kg/d | 27 | 1.13 (0.14) | 0.03 (0.007, 0.04) | 0.007 |
| Milk lactose, % | 24 | 4.80 (0.14) | −0.009 (−0.03, 0.02) | 0.479 |
| Milk lactose yield, kg/d | 13 | 1.77 (0.19) | 0.05 (0.02, 0.08) | 0.001 |
| DM digestibility, % | 9 | 68.4 (4.44) | 1.36 (−0.14, 2.86) | 0.077 |
| NDF digestibility, % | 9 | 50.1 (7.45) | 2.30 (−0.42, 0.503) | 0.098 |

Arriola et al. (2017)

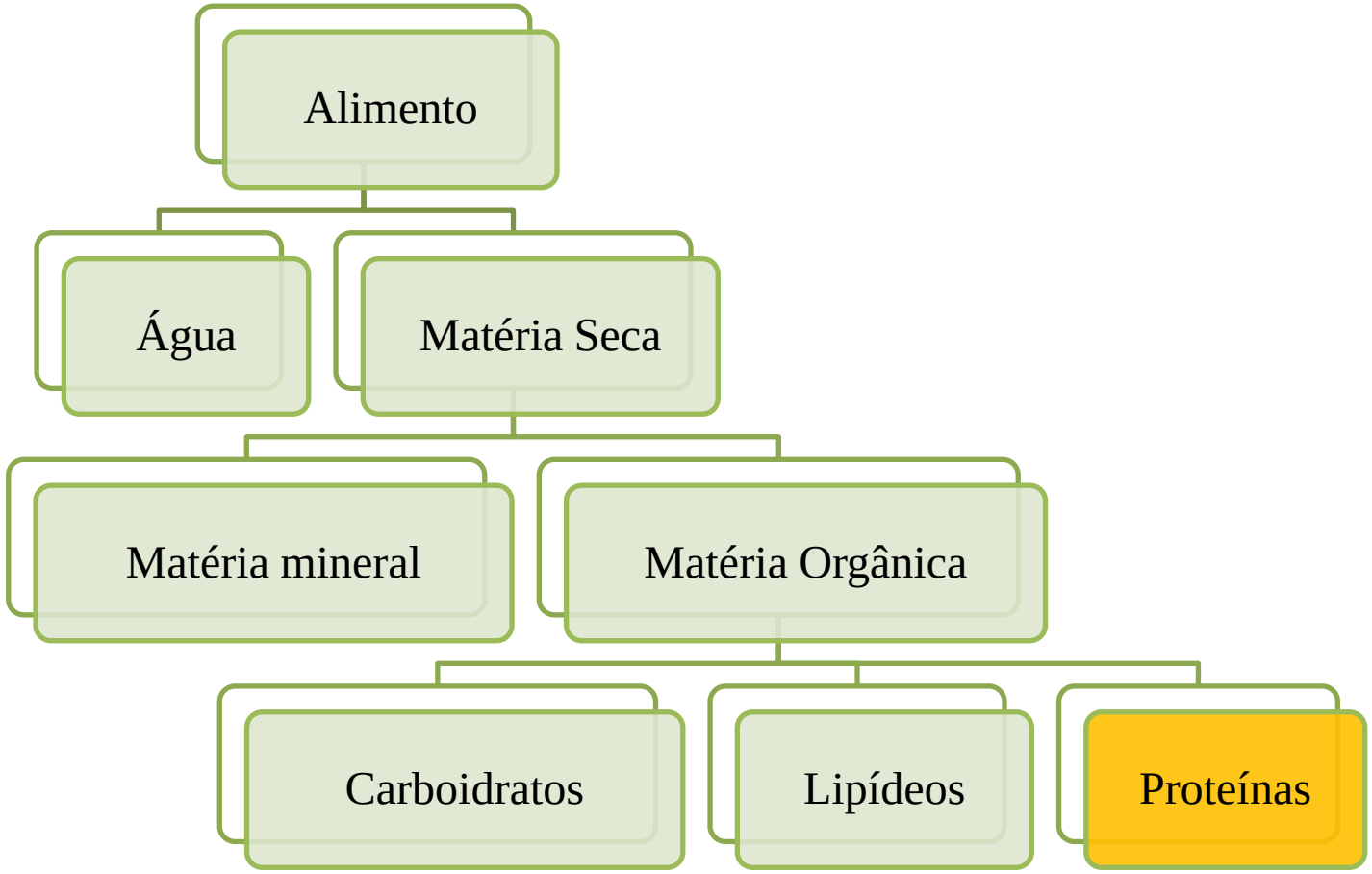
# Dúvidas?

LABORATÓRIO DE PESQUISA EM BOVINOS DE LEITE
LPBL
FMVZ - USP

# METABOLISMO DE PROTEÍNA

Tiago A. Del Valle

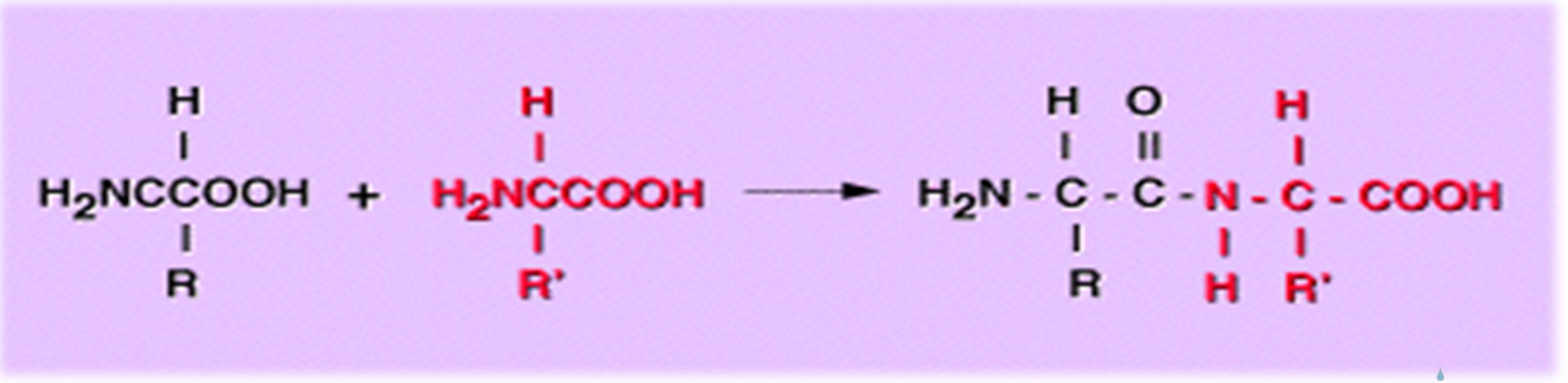
# Fracionamento dos alimentos




Fonte: Berchielli et al. (2006)

# Conceito

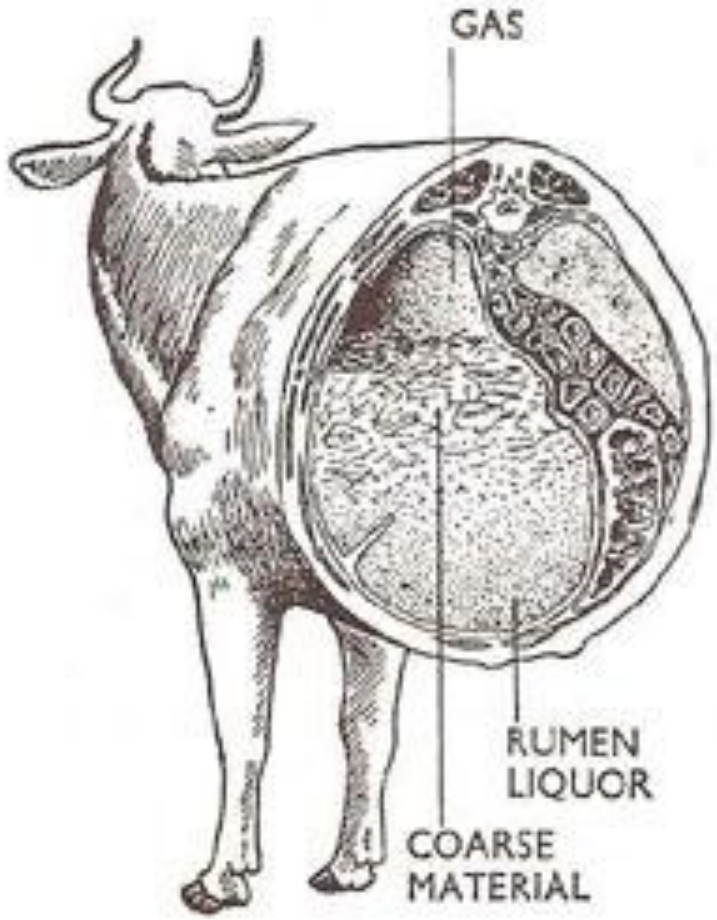
- Proteínas são polímeros aminoácidos, ligados entre si por ligações peptídicas.




- AA

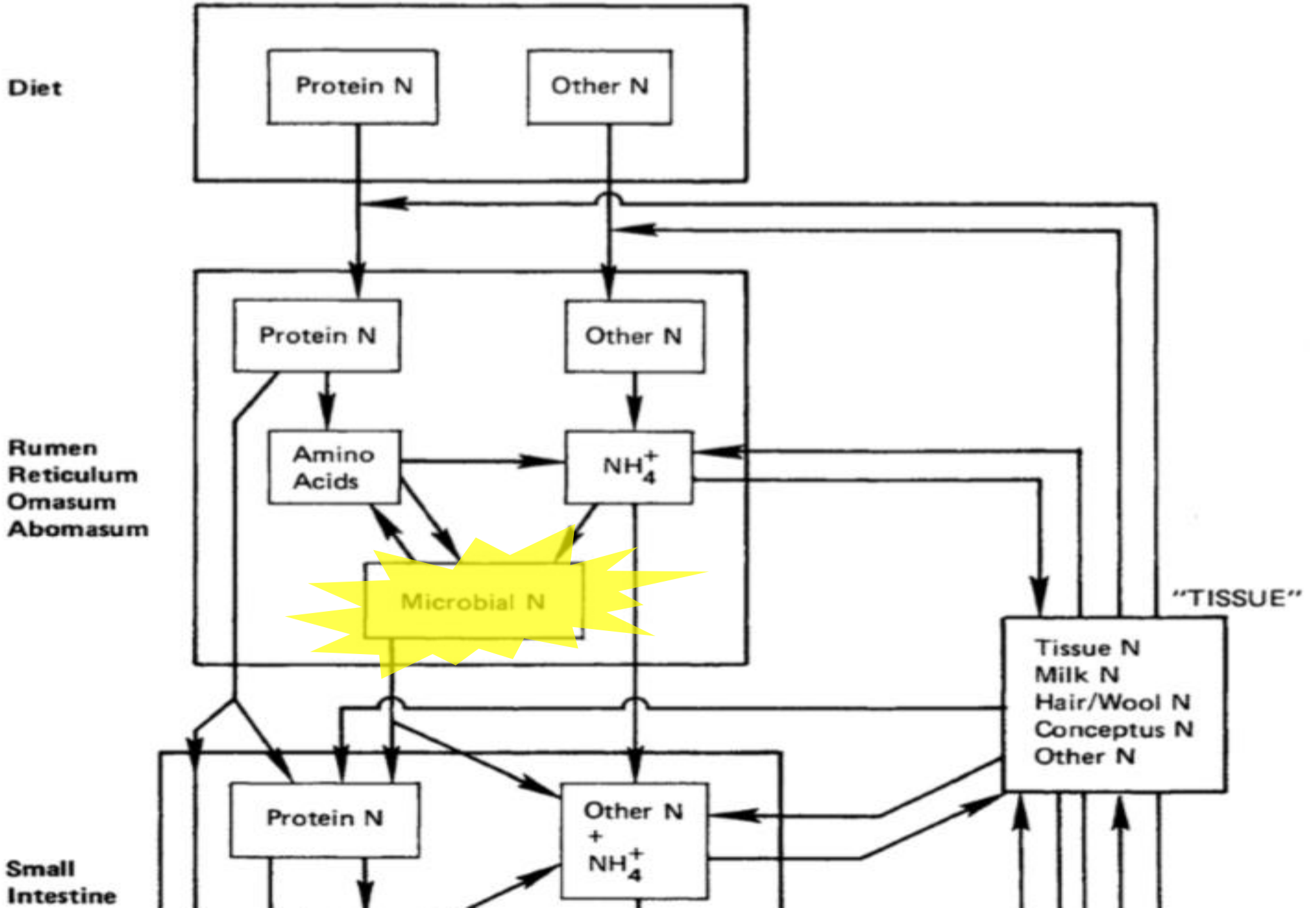
# INTRODUÇÃO

- Exigências de aminoácidos;
  - Difícil determinar exigências e o suprimento.
    - Rúmen é um complicador!



# INTRODUÇÃO

- NRC (1978):
  - Exigências de proteína bruta;
- Demarquilly et al. (1978) e NRC (1985):
  - Sistema PDI (proteína digestível no intestino);
- NRC (1989 e 1996):
  - Sistema de proteína metabolizável;


Diet
Protein N
Other N
Rumen
Reticulum
Omasum
Abomasum
Protein N
Other N
Amino Acids
$NH_4^+$
Microbial N
"TISSUE"
Tissue N
Milk N
Hair/Wool N
Conceptus N
Other N
Small Intestine
Protein N
Other N + $NH_4^+$

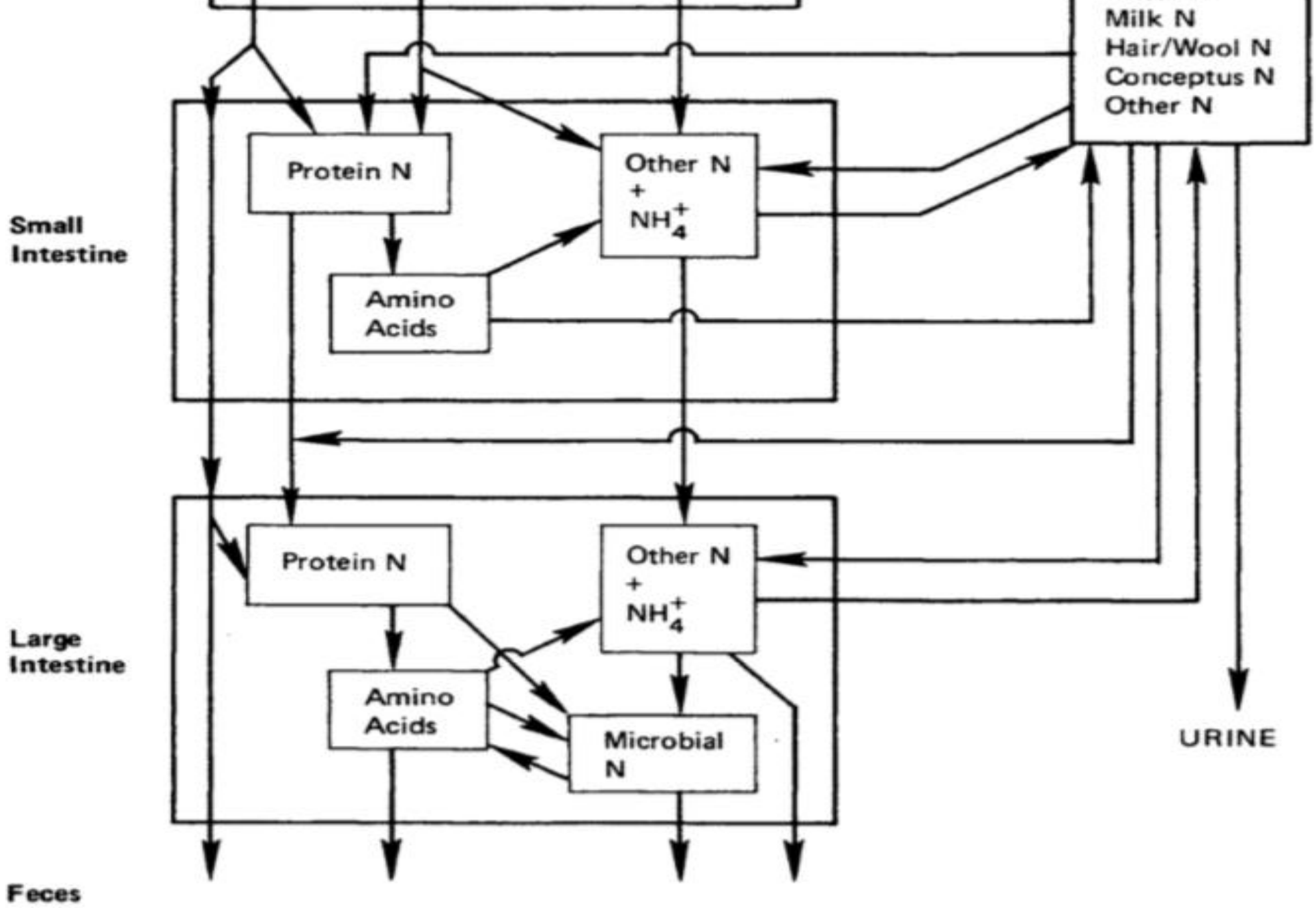
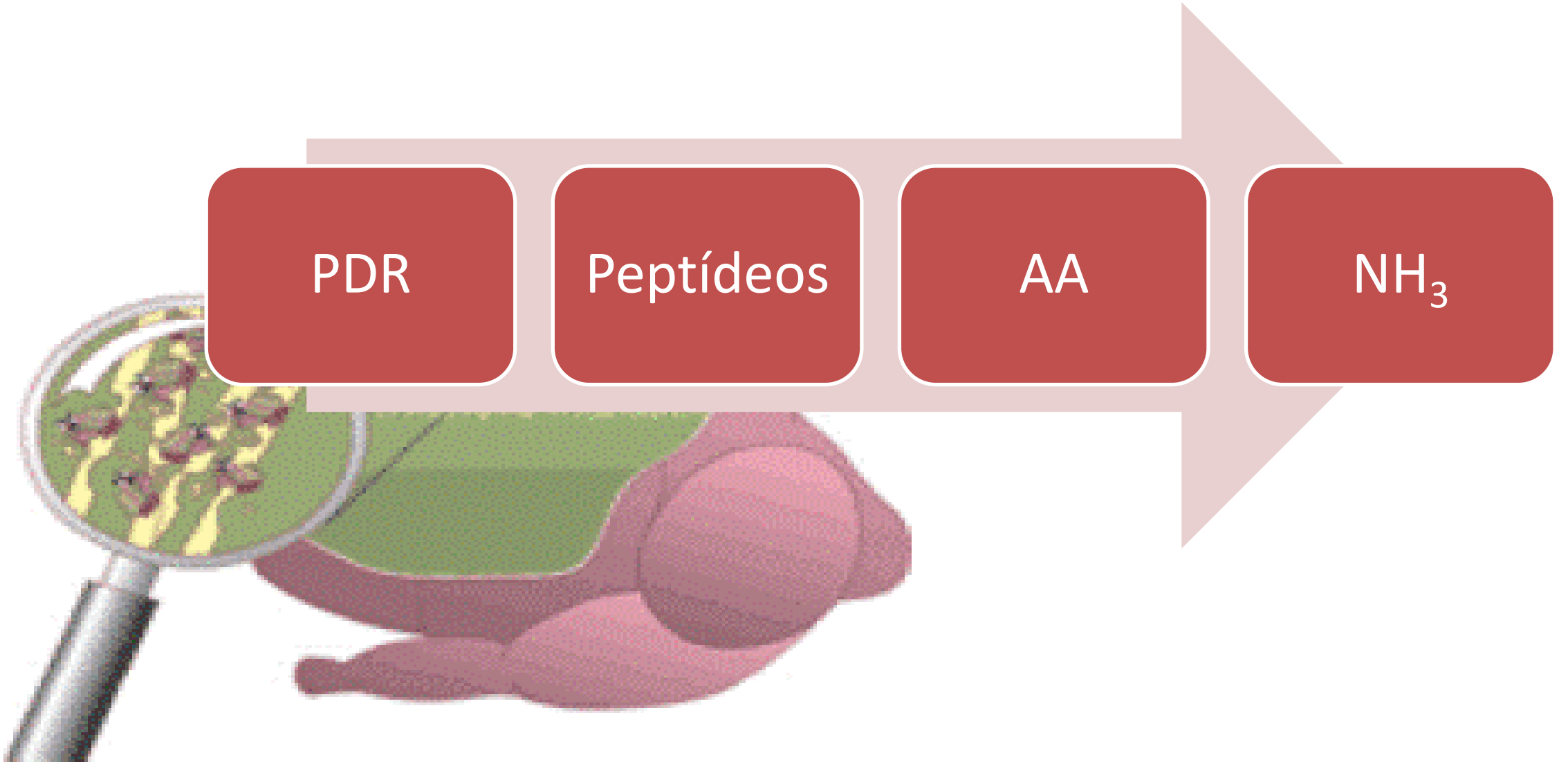



FIGURE 1 Schematic of nitrogen flow in the ruminant.

# Resumindo...



# Fatores que afetam a degradabilidade proteica

- Composição química da proteína;
  - Concentração de NNP (%PB):
    - 10 à 25 de forragens frescas;
    - 30 à 65 em silagens;
    - <12% em concentrados;
  - Solubilidade;
- Composição física e processamento;
- Tempo de retenção ruminal.

# Degradação proteica

- Segundo NRC:
  - Metodologia *in situ*;
  - Sistema A, B e C.
- Segundo CNCPS:
  - Sistema A, B1, B2, B3 e C.

**PDR e PNDR**

# SÍNTESE MICROBIANA

- Por que é importante?
  - Aspecto quantitativo e qualitativo.
  - Determina a exigência de PDR!!

- Composição da proteína microbiana:
  - 60% proteína (CNCPS);
  - 80% proteína (NRC).

# SÍNTESE MICROBIANA

- Estimativa da síntese microbiana:
  - 130 g / kg de NDT (NRC 1996 e 2001);
    - Lipídeos contribuem significativamente para o consumo de NDT e não são substrato para o crescimento de microrganismos (Kozloski, 2011);
  - NRC (2016):
    - Para EE <3,9%: SPM (g/d) = 42,73 + 0,087 × CNDT (g/d)
    - Para EE >3,9%: SPM (g/d)= 53,33 + 0,096 × CNDTc (g/d)

# SÍNTESE MICROBIANA

- Proteína microbiana:
  - Bactérias, protozoários e fungos;
  - Protozoários contribuem menos que bactérias para o fluxo microbiano:
    - Tem menor taxa de renovação (Leng et al., 1986; Punia et al., 1992);
- Protozoários aumentam o *turnover* de bactérias no rúmen (Russel et al., 1992 – CNCPS);
  - Protozoários são sensíveis à suplementação lipídica (Clarck et al., 1992).

# SÍNTESE MICROBIANA

- Fatores determinantes:
  - Nitrogênio amoniacal:
    - 2 a 5 mg/dL (Slyter et al., 1979);
    - Russel et al.: fontes diferentes;
    - Reynal et al. (2005):
      - Aumento da síntese proteica com o aumento da concentração de PDR da dieta (e da PB);
    - Eficiência de síntese;
    - Excreção de ureia (Obitsu et al., 2011).

# Digestibilidade intestinal

- Mecanismo similar ao de monogástricos;
- Digestibilidade:
  - 80% no NRC (1996);
  - 50 à 100%, dependendo do alimento no NRC (2001).

# E os AA?

- Pesquisas mais avançadas com lisina e metionina;

# Implicações sobre desempenho

**Não respondem a suplementação com PNDR**

- Bovinos de corte em terminação
- Vacas secas ou de baixa produção

**Respondem a suplementação com PNDR**

- Vacas de alta produção
- Animais em crescimentos

**Respondem à adição de AA**

- Vacas recém paridas e/ou de muito alta produção

NRC Nutrient Requirements of Dairy Cattle v. 1.1.9 - Leme A

File Go To... Help

Inputs Feeds Ration Reports Help

Ration List (Dry Matter Basis)

| Feed Name | Qty. (kg/day) | % Total |
|---|---|---|
| 1. Silagem de milho | 11.597 | 48.02 % |
| 2. Polpa cítrica | 1.063 | 4.40 % |
| 3. Milho moído | 4.253 | 17.61 % |
| 4. Farelo de soja | 2.973 | 12.31 % |
| 5. Soy Pass | 1.522 | 6.30 % |
| 6. Calcário | 0.242000 | 1.00 % |
| 7. Sal | 0.036000 | 0.15 % |
| 8. Bicarbonato | 0.193000 | 0.80 % |
| 9. Mineral 2 | 0.338000 | 1.40 % |
| 10. Caroço de algodão | 1.932 | 8.00 % |

Total Intake 24.149 kg/day

Estimate Intake Set to 100%

Ration Results

NDF : 33.9 (%DM)
Forage NDF : 24.0 (%DM)
ADF : 20.4 (%DM)
NFC : 41.0 (%DM)
Undiscounted TDN : 71 (%DM)
ME : 2.48 (Mcal/kg DM)
NEl : 1.57 (Mcal/kg DM)
NEg : 1.12 (Mcal/kg DM)
Ca : 1.0 (%DM)
P : 0.4 (%DM)
Ether-Extract : 4.0 (%DM)
DCAD : 279 (mEQ/kg)

**90 DEL; 600 kg PV; 40 kg/dia de PL; confinamento**

NRC Nutrient Requirements of Dairy Cattle v. 1.1.9 - Leme A

File Go To... Help

Inputs Feeds Ration Reports Help

**Ration List (Dry Matter Basis)**

| Feed Name | Qty. (kg/day) | % Total |
|---|---|---|
| | | |
| 1. Brachiária Brizantha | 7.520 | 42.01 % |
| 2. Silagem de milho | 0.000 | 0.00 % |
| 3. Polpa cítrica | 0.788 | 4.40 % |
| 4. Milho moído | 5.551 | 31.01 % |
| 5. Farelo de soja | 3.603 | 20.13 % |
| 6. Calcário | 0.179000 | 1.00 % |
| 7. Sal | 0.027000 | 0.15 % |
| 8. Mineral 2 | 0.233000 | 1.30 % |
| | | |
| Totals | 17.901 | 100% |

**Total Intake** 17.901 kg/day

Estimate Intake | Set to 100%

**Ration Results**

NDF : 37.7 (%DM)
Forage NDF : 30.8 (%DM)
ADF : 19.3 (%DM)
NFC : 38.5 (%DM)
Undiscounted TDN : 68 (%DM)
ME : 2.49 (Mcal/kg DM)
NEl : 1.57 (Mcal/kg DM)
NEg : 1.02 (Mcal/kg DM)
Ca : 1.0 (%DM)
P : 0.4 (%DM)
Ether-Extract : 2.9 (%DM)
DCAD : 127 (mEQ/kg)

**90 DEL; 550 kg PV; 25 kg/dia de PL; a pasto**

**Tiago A. Del Valle**

tiagodelvalle@usp.br

**Obrigado!**