

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 07/05/2023.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AJUSTE DA CONCENTRAÇÃO DE AMINOÁCIDOS DA
DIETA DE ACORDO COM O RITMO CIRCADIANO DE
SUÍNOS EM CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO**

**Alini Mari Veira
Mestre em zootecnia
Zootecnista**

2021

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AJUSTE DA CONCENTRAÇÃO DE AMINOÁCIDOS DA
DIETA DE ACORDO COM O RITMO CIRCADIANO DE
SUÍNOS EM CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO**

Discente: Alini Mari Veira

Orientador: Prof. Dr. Luciano Hauschild

Coorientador: Prof. Dr. Paulo Henrique R. F. Campos

Coorientador: Prof. Dr. Luan Sousa dos Santos

**Tese Apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutora em
Zootecnia.**

V427a Veira, Alini Mari

Ajuste da concentração de aminoácidos da dieta de acordo com o ritmo circadiano de suínos em crescimento e terminação / Alini Mari Veira. -- Jaboticabal, 2021

103 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Luciano Hauschild

1. Nutrição animal. 2. Ritmo circadiano. 3. Aminoácidos. 4. Suínos.

I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: AJUSTE DA CONCENTRAÇÃO DE AMINOÁCIDOS DA DIETA DE ACORDO COM O RITMO CIRCADIANO DE SUÍNOS EM CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO

AUTORA: ALINI MARI VEIRA


ORIENTADOR: LUCIANO HAUSCHILD

COORIENTADOR: PAULO HENRIQUE REIS FURTADO CAMPOS

COORIENTADOR: LUAN SOUSA DOS SANTOS


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em ZOOTECNIA, pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. LUCIANO HAUSCHILD (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. INES ANDRETTA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia-Universidade Federal do Rio Grande do Sul / Porto Alegre/RS


Profa. Dra. NILVA KAZUE SAKOMURA (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Pesquisadora Dra. ALINE REMUS (Participação Virtual)
Sherbrooke Research and Development Centre, Agriculture and Agri-Food Canada / Sherbrooke/Canadá


Prof. Dr. CÉSAR AUGUSTO POSPISSIL GARBOSSA (Participação Virtual)
Departamento de Nutrição e Produção Animal-VNP-FMVZ/USP / Pirassununga/SP

Jaboticabal, 07 de maio de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ALINI MARI VEIRA – nascida em Bauru – SP, no dia 8 de outubro de 1990. Ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Federal do Ceará (UFC) no ano de 2010, graduando-se em dezembro de 2014. Durante a graduação, fez estágio na área de produção e nutrição de suínos, participou de projetos de pesquisa, foi membro da Empresa Junior de Zootecnia da UFC, foi membro do Núcleo de Ensino e Estudos em Suinocultura da UFC de agosto de 2010 a junho de 2014. Durante o período de agosto de 2012 a julho de 2014 foi bolsista de iniciação científica (CNPq) sob orientação do Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe. Em março de 2015 iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP – Campus de Jaboticabal, como bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Obtendo o título de Mestre em Zootecnia em fevereiro de 2017 sob orientação do Prof. Dr. Luciano Hauschild. Mesmo ano que iniciou o doutoramento no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP – Campus de Jaboticabal, como bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, número do processo: 141289/2017-1) no período de março de 2017 a junho de 2018. Durante o doutorado foi professora bolsista do Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP – Campus de Jaboticabal, sendo responsável e ministrando as disciplinas de Suinocultura e Zootecnia de Suínos para estudantes de graduação durante o período de fevereiro a junho de 2018. Ainda durante o doutorado foi bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, número do processo: 2017/18734-1) de julho de 2018 a abril de 2021. Defendendo a presente tese no dia 7 de maio de 2021 sob orientação do Prof. Dr. Luciano Hauschild.

“Se você tem conhecimento, deixe os outros acenderem suas velas nele.”

Margaret Fuller

*Aos meus queridos animais, todo o meu respeito e gratidão!
À minha mãe Emilia, por todo apoio, incentivo e amor incondicional.*

Dedico!

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal, por toda infraestrutura fornecida para elaboração dessa tese.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, que ofereceu todo suporte científico e administrativo necessários para conclusão dessa tese.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – pela bolsa de doutorado (número do processo: 141289/2017-1; período de vigência: março de 2017 a junho de 2018).

À Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela bolsa de doutorado (número do processo: 2017/18734-1; período de vigência: julho de 2018 a abril de 2021), e pelo auxílio à pesquisa (número do processo: 2018/15559-7).

Ao meu orientador Prof. Dr. Luciano Hauschild, por toda essa trajetória de orientação na pós-graduação, por todas as oportunidades de crescimento profissionais e pessoais, por toda humildade e respeito, por todo o tempo dedicado à minha formação e às nossas pesquisas. São ensinamentos que levarei sempre comigo. Muito obrigada! *“Pouco conhecimento faz com que as pessoas se sintam orgulhosas. Muito conhecimento, que se sintam humildes. É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o céu, enquanto que as cheias as baixam para a terra.” Leonardo da Vinci.*

Ao meu coorientador, colega de pós-graduação e amigo querido Prof. Dr. Luan Sousa dos Santos, por participar de todas as etapas desse trabalho e sempre me socorrer em todos os momentos de necessidade (profissionais e pessoais). Obrigada pela amizade, por toda a contribuição para minha formação acadêmica e por sempre acreditar no meu trabalho!

Ao meu coorientador Prof. Dr. Paulo Campos, por toda dedicação e contribuição para essa tese, por todo incentivo e encorajamento para utilização de novas técnicas, bem como pelo acolhimento nos momentos difíceis. Gratidão!

À Profa. Dra. Luciane Gargaglione, por ter se responsabilizado pela minha orientação quando meu orientador estava fora do país e por sempre me auxiliar e encorajar nas questões relacionadas à FAPESP. Sempre lembrarei com muito carinho e gratidão, sendo para mim uma grande referência de orientadora e cientista!

À Profa. Dra. Ines Andretta, por ter participado do exame geral de qualificação e da defesa da tese, contribuindo com considerações relevantes para esse trabalho. Por todo o acolhimento, gentileza e humildade ao dividir seu imenso conhecimento. Admiração gigante pela professora, orientadora e pesquisadora que você é!

À Dra. Aline Remus, por ter participado da defesa da tese, por ter contribuído de forma muito significativa com sugestões para melhoria da tese e dos artigos científicos e por toda a disponibilidade para esclarecimentos de dúvidas. Tenho grande admiração pelo seu trabalho e, sem dúvidas, você é uma das minhas maiores referências de mulheres na ciência!

À Profa. Dra. Nilva Sakomura, por ter participado da defesa do projeto de tese, do exame geral de qualificação e da defesa final da tese, levantando pontos essenciais para melhor execução, escrita e apresentação desse trabalho e por todo conhecimento compartilhado nas disciplinas da pós-graduação.

Ao Prof. Dr. Gustavo do Valle Polycarpo, por ter participado do exame geral de qualificação e contribuído grandemente com o resultado final desse trabalho, nos auxiliando a apresentar os resultados da melhor forma possível e compartilhando seu conhecimento e seu tempo para nos ajudar. Muito obrigada, professor!

Ao Prof. Dr. Cesar Augusto Pospissil Garbossa, por ter participado da defesa da tese, contribuindo para a melhoria desse trabalho e dividindo seu conhecimento em nutrição e produção de suínos.

Ao Dr. Danilo Alves Marçal, por ter participado do exame geral de qualificação, por contribuir na redação e correção dos manuscritos, pelos ensinamentos e por toda a disponibilidade para o esclarecimento de dúvidas.

Ao funcionário do Laboratório de Estudos em Suinocultura, José, pela participação em todas as etapas dos experimentos e por todo apoio, principalmente,

nos momentos difíceis. E também ao funcionário que se aposentou, Wilson, que não participou ativamente desses experimentos, mas por quem eu tenho grande admiração e que compartilhou seus conhecimentos e contribuiu para minha formação.

Aos funcionários da Fábrica de Rações, Hélio (*In memorian*) e Lucas, pelos conhecimentos compartilhados, por auxiliarem na elaboração e por realizarem o processamento das rações utilizadas nos experimentos.

Aos funcionários do Laboratório de Nutrição Animal, Ana Paula e Orlando, por todos os ensinamentos e por auxiliarem nas análises químicas das amostras coletadas.

Aos funcionários da Seção Técnica de Pós-Graduação, por todo auxílio durante todo o período do doutorado.

A todos da equipe que dedicaram uma parte do seu tempo e que tornaram possível a realização desse trabalho: Alicia Fraga, Ana Laura Passere, Bárbara Thomazini, Beatriz Quintiliano, Breno Balabenute, Cleslei Silva, Estefânia Dias, Ester Marçal, Gabriel Bueno, Gabriel Menezes, Isabella Peixoto, Janine Alves, Larissa Barbosa, Marina Miotto, Mateus Faria, Olavo Locatelli, Paulo Azevedo, Priscila Baquete, Raphael Caetano, Stiven Escobar e Victor Mazzi.

Aos queridos colegas de pós-graduação, Cíntia, Jaqueline, Raphael e Welex, que tanto me ensinaram e deram suporte durante essa caminhada e por quem eu tenho enorme carinho e admiração.

Ao colega que se tornou um amigo querido, Cleslei Silva, por todo seu tempo e dedicação para me auxiliar durante todo o ensaio de metabolismo e por todo apoio emocional e encorajamento durante a redação dessa tese.

À médica veterinária Marina Mechler, por toda disponibilidade em auxiliar nesses experimentos compartilhando seus conhecimentos e cuidando dos animais sempre que necessário.

Ao Laboratório de Estudos em Suinocultura – Labsui, por todos os desafios e oportunidades de crescimento que foram dados a mim, bem como a seus integrantes pelo convívio durante esses anos.

À Evonik Industries, pela doação de parte dos aminoácidos utilizados nos experimentos e pelo auxílio com análises laboratoriais.

A Deus, por sempre me colocar no caminho certo, mesmo que, muitas vezes, eu não possa ver com meus olhos humanos, e no início seja difícil aceitar, Ele sempre tem o melhor para mim e me deu forças para chegar até aqui.

À minha família, por todos os valores ensinados, por respeitarem minhas escolhas, aceitarem minha ausência, me incentivarem sempre a continuar e mostrarem que, não importa o que aconteça, eu sempre terei para onde voltar. ♥

Ao meu companheiro Lucas, por sonhar meus sonhos junto comigo e torná-los nossos, sempre me apoiando em todos os meus projetos profissionais e pessoais, muitas vezes acreditando mais em mim do que eu mesma, estando sempre ao meu lado, sendo meu lar. ♥

Aos meus amados amigos, do tempo de escola, cursinho, faculdade e os que fiz em Jaboticabal, que aceitam a minha ausência e falta de tempo, mas nunca desistem de mim, sempre me acolhendo, torcendo e admirando. ♥

Ao meu orientador durante a graduação Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe, por todos os ensinamentos, pelo grande exemplo de orientador e por me incentivar a continuar na carreira acadêmica.

À Rafael e Emanuela, estudantes de doutorado, hoje doutores, que eu auxiliei durante minhas iniciações científicas e por quem eu tenho imenso carinho e gratidão!

À funcionária do Laboratório de Nutrição Animal – UFC, Roseane, por tudo que me ensinou durante minha graduação, pela companhia e ótimos momentos compartilhados!

A todos que cederam seu tempo para contribuir de alguma forma em cada etapa dessa tese, bem como para a minha formação profissional, deixo aqui meus mais sinceros agradecimentos.

“ Quem acolhe um benefício com gratidão, paga a primeira prestação da sua dívida. ”

Sêneca

SUMÁRIO

RESUMO.....	vi
ABSTRACT	ix
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1.1 Introdução	1
1.2 Revisão de Literatura	2
1.2.1 Programas nutricionais para suínos	2
1.2.2 Ciclo circadiano	4
1.2.3 Ritmo circadiano de alimentação	6
1.2.4 Ritmo circadiano do estado metabólico.....	9
1.2.5 Problemática do tema pesquisado	10
1.2.6 Hipótese	11
1.2.7 Objetivos	11
1.2.8 Estruturação da tese	11
1.3 Referências	12
CAPÍTULO 2 - The sequential feeding system with adjust in the diet amino acid concentration according to the circadian rhythm can improve protein metabolism in pigs: I. Metabolism assay	18
Introduction.....	20
Material and methods.....	21
Animals, housing and experimental design.....	21
Feeding programs, nutritional requirements, and diets	22
Experimental measurements.....	24
Performance.....	24
Nitrogen balance	24
Blood sampling.....	25
Analytical Procedures	25
Calculations and statistical analysis	26
Results	26
Performance.....	27
Nitrogen balance	27
Plasm and serum variables	27

Pre-prandial.....	27
Postprandial	27
Discussion	28
Performance and nitrogen balance	28
Blood metabolites.....	29
Conclusion.....	31
Conflict of interest.....	31
Acknowledgements	31
References	31
Table 1	35
Table 2	37
Table 3	39
Table 4	41
Table 5	44
CAPÍTULO 3 - The sequential feeding system with adjust in the diet amino acid concentration according to the circadian rhythm can improve protein deposition in pigs:	
II. Growth assay	46
Introduction.....	49
Material and methods	50
Animals, housing and experimental design	50
Nutritional requirements, diets, and feeding programs.....	51
Analytical procedures	53
Experimental measurements.....	53
Calculations and statistical analysis	54
Results	55
Performance.....	56
Body composition.....	56
Nutrient balance	57
Discussion	58
Overview of the sequential feeding system	58
Performance and body composition	58
Nutrient balance	61

Conclusion.....	62
Conflict of interest.....	62
Acknowledgements	62
References	63
Table 1	68
Table 2	70
Table 3	73
Table 4	76
CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	81

CERTIFICADO DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **“Plano de alimentação sequencial com variação no nível de aminoácidos a cada 12 horas para suínos em crescimento”**, protocolo nº 012570/18, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Luciano Hauschild, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 06 de setembro de 2018.

Vigência do Projeto	15/10/2018 a 07/01/2019
Espécie / Linhagem	Suínos / Comercial
Nº de animais	70
Peso / Idade	25 – 100kg / 60 a 150 dias
Sexo	Machos castrados
Origem	Granjas comercial / Minas Gerais

Jaboticabal, 06 de setembro de 2018.

Fabiana Pilarski
Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado “**Plano de alimentação sequencial com variação no nível de aminoácidos a cada 12 horas para suínos em crescimento**”, protocolo nº 08335/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Luciano Hauschild, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 04 de julho de 2019.

Vigência do Projeto	01/08/2019 a 30/08/2019
Espécie / Linhagem	Suínos / Comercial
Nº de animais	24
Peso / Idade	25 – 40 kg / 60 a 90 dias
Sexo	Machos castrados
Origem	Granja comercial / Minas Gerais

Jaboticabal, 04 de julho de 2019.

Fabiana Pilarski
Prof.ª Dr.ª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

AJUSTE DA CONCENTRAÇÃO DE AMINOÁCIDOS DA DIETA DE ACORDO COM O RITMO CIRCADIANO DE SUÍNOS EM CRESCIMENTO E TERMINAÇÃO

RESUMO – Na nutrição de suínos, as rações são formuladas de acordo com o estágio de crescimento dos animais e, predominantemente, uma única dieta é fornecida por um longo período dentro de um sistema de alimentação por fases. Nesse sistema, quando o objetivo é otimizar o desempenho de um lote de animais os nutrientes são, normalmente, fornecidos em excesso principalmente ao final de cada fase. Dessa forma, devido ao custo elevado dos alimentos, aliado a excreção de elementos poluidores, novas estratégias nutricionais devem ser propostas e avaliadas. Dentro desse contexto, programas que permitem fornecer uma dieta que atenda a exigência diária dos animais têm se demonstrados promissores uma vez que permitem reduzir custos e excreção de elementos poluidores. Nesse contexto de nutrição de precisão, torna-se relevante destacar que a eficiência de utilização dos nutrientes pode variar ao longo do dia, de acordo com as variações do estado metabólico (catabolismo e anabolismo) dos animais determinado pelo ciclo circadiano. Portanto, o ajuste da concentração nutricional da dieta às flutuações do estado metabólico dos suínos ao longo do dia pode ser uma estratégia promissora para melhorar o uso racional de nutrientes e consequentemente reduzir custos e impacto ambiental. Dessa forma, com essa tese objetivou-se avaliar os efeitos do ajuste da concentração de aminoácidos da dieta de acordo com o ritmo circadiano do estado metabólico de suínos sobre o metabolismo e desempenho zootécnico. Para isso foram realizados dois ensaios experimentais: (i) metabolismo e (ii) desempenho e composição corporal. No ensaio de metabolismo o objetivo foi avaliar balanço de nitrogênio e metabolismo de nutrientes de suínos alimentados com dietas com diferentes concentrações de aminoácidos nas refeições da manhã e da tarde, respectivamente. Um total de 24 suínos machos (peso corporal inicial de $35 \pm 3,32$ kg) foram alojados em gaiolas metabólicas e submetidos a três programas de alimentação (8 animais por tratamento). Um programa de alimentação diário (DP), onde uma dieta atendendo 100% das exigências em aminoácidos (AA) foi fornecida nas refeições da manhã e da tarde; e dois programas de alimentação sequencial (SEQ): programa de

alimentação sequencial com redução e aumento em 40% na concentração de AA (SEQ_{LH}) no período da manhã e da tarde, respectivamente; e programa de alimentação sequencial com aumento e redução em 40% na concentração de AA no período da manhã e da tarde (SEQ_{HL}), respectivamente. O experimento metabólico teve duração de 21 dias, consistindo em 7 dias de adaptação e 14 dias de experimento. O balanço de nitrogênio (N) foi realizado utilizando o método de coleta total. Coletas de sangue foram realizadas nos dias 7 e 14 com duas coletas em cada dia: a primeira em jejum (pré-prandial) e a segunda 2,5 horas após a primeira refeição do dia (pós-prandial). O metabolismo de nutrientes foi mensurado por meio de análise das concentrações séricas ou plasmáticas de lactato, glicose, triglicerídeos, proteína total, albumina e ureia presentes no sangue. Os animais do SEQ_{HL} apresentaram uma tendência de menor ganho de peso diário (11%, $P = 0,06$), e tiveram uma pior eficiência alimentar (10%, $P = 0,02$) comparado aos DP e SEQ_{LH}. Contudo, os animais do SEQ_{LH} e DP apresentaram desempenho similares ($P < 0,05$). A excreção urinária de N foi mais alta (17%, $P = 0,03$) e a retenção de N (%) tendeu a ser menor para os animais do SEQ_{HL} comparado aos do SEQ_{LH} (7%, $P = 0,08$). Contudo, os animais do DP e SEQ_{LH} apresentaram balanço de N similares ($P < 0,05$). As concentrações plasmáticas de glicose pré-prandial foram maiores para os animais do SEQ_{HL} comparado aos do DP e SEQ_{LH} (5%, $P = 0,04$). No dia 7, as concentrações séricas de proteína total e albumina pré-prandial foram maiores para os animais do SEQ_{LH} comparado aos o DP e SEQ_{HL} (43 e 38%; $P < 0,01$). Os animais do SEQ_{HL} tiveram maior concentração sérica de ureia pós-prandial do que os do DP e SEQ_{LH} (28%; $P < 0,01$). Nesse primeiro estudo conclui-se, portanto, que o fornecimento de dietas com baixo e alto nível de AA nas refeições da manhã e da tarde, respectivamente, pode melhorar o metabolismo da proteína de suínos em crescimento. No segundo estudo objetivou-se avaliar o desempenho, a composição corporal e o balanço de nutrientes de suínos alimentados com dietas com diferentes níveis de decréscimo e aumento na concentração de AA nas primeiras e últimas 12 horas do dia, respectivamente. Um total de 68 suínos machos castrados (peso corporal inicial de $25 \pm 2,67$ kg) foram distribuídos em um delineamento de blocos ao acaso (peso corporal) em quatro tratamentos (17 animais por tratamento): programa de alimentação diário (DP), onde uma dieta contendo 100% da concentração de AA foi fornecida 24 horas por dia; e

três programas de alimentação sequencial (SEQ), com diferentes níveis de variação na concentração de AA, em que os suínos receberam uma dieta com redução (-20, -30, -40%) da concentração de AA de 0000 a 1159 h (período 1; P1) e aumento (+20, +30, +40%) de 1200 a 2359 h (período 2; P2), respectivamente. O experimento teve duração de 82 dias (25 a 100 kg), dividido em três fases experimentais. As análises estatísticas consistiram em avaliar a comparação entre os programas de alimentação (DP vs SEQ) e as respostas linear e quadrática de acordo com o aumento da concentração dos níveis de AA na dieta. Durante a fase 1, o consumo médio diário de ração, consumo médio diário de lisina, peso corporal e proteína corporal tenderam ($P < 0,09$) a aumentar de forma quadrática com o aumento da variação nos níveis de AA da dieta, enquanto o lipídio corporal aumentou ($P < 0,03$) quadraticamente com o aumento da variação nos níveis de aminoácidos da dieta. Durante a fase 2, a eficiência alimentar aumentou ($P = 0,01$) linearmente com o aumento da variação nos níveis de AA da dieta, enquanto que o ganho de peso e ganho de proteína tenderam ($P = 0,09$) a aumentar de maneira linear com a variação na dieta os níveis de AA aumentaram. Durante a fase 3, os animais do SEQ, quando comparados ao grupo DP, apresentaram desempenho e composição corporal semelhantes ($P > 0,05$), contudo uma tendência para maior excreção de N foi observada (12%; $P = 0,05$). Portanto, os resultados do presente estudo indicam que o ajuste das concentrações de AA na dieta de acordo com o ritmo circadiano (estado de catabolismo e anabolismo) melhora a deposição de proteína para suínos de 25-50 kg. Além disso, este ajuste tende a aumentar ganho de peso diário, peso e proteína corporal para suínos de 50-70 kg. Essas melhores respostas foram observadas em redução e aumento de 40% nas primeiras e nas últimas doze horas do dia, respectivamente, na recomendação dos níveis de aminoácidos da dieta.

Palavras-chave: anabolismo, catabolismo, exigência nutricional, programas nutricionais, suinocultura.

ADJUSTMENT IN THE DIET AMINO ACIDS CONCENTRATION ACCORDING TO THE CIRCADIAN RHYTHM OF GROWING-FINISHING PIGS

ABSTRACT – In swine nutrition, feeds are formulated according to the growth stage of the animals and, predominantly, a single diet is provided for a long period within a phase feeding system. In this system, when the objective is to optimize the performance of a group of animals, nutrients are normally supplied in excess mainly at the end of each phase. Thus, due to the high cost of feeds, combined with the excretion of polluting elements, nutritional strategies must be proposed and evaluated. Within this context, programs that allow to provide a diet that meets the daily requirement of animals have shown to be promising since they allow to reduce costs and excretion of polluting elements. In this context of precision nutrition, it is important to highlight that the efficiency of nutrient use may vary throughout the day, according to the variations in the metabolic state (catabolism and anabolism) of the animals determined by the circadian cycle. Therefore, adjusting the nutritional concentration of the diet to fluctuations in the metabolic status of pigs throughout the day may be a promising strategy to improve the rational use of nutrients and consequently reduce costs and environmental impact. Thus, with this thesis aimed to evaluate the effects of adjusting the concentration of nutrients in the diet according to the circadian rhythm of the metabolic state of pigs on metabolism and growth performance. For this, two experimental tests were performed: (i) metabolism and (ii) performance and body composition. In the metabolism assay, the objective was to evaluate nitrogen balance and nutrient metabolism of pigs fed diets with different amino acid concentrations in the morning and afternoon meals, respectively. A total of 24 male pigs (initial body weight 35 ± 3.32 kg) were housed in metabolic cages and submitted to three feeding programs (8 animals per treatment). A daily feeding program (DP), which a diet with 100% of amino acid (AA) requirements was provided in morning and afternoon meals; and two sequential feeding programs (SEQ): sequential feeding program with 40% reduction and increase in AA concentration (SEQ_{LH}) in the morning and afternoon, respectively; and sequential feeding program with 40% increase and decrease in AA

concentration in the morning and afternoon (SEQ_{HL}), respectively. The metabolic experiment lasted 21 days, consisting of 7 days of adaptation and 14 days of experiment. The nitrogen (N) balance was performed using the total collection method. Blood collections were performed on days 7 and 14 with two collections each day: the first after fasting (preprandial) and the second 2.5 hours after the first meal of the day (postprandial). Nutrient metabolism was measured by analyzing the serum or plasma concentrations of lactate, glucose, triglycerides, total protein, albumin and urea present in the blood. The animals from SEQ_{HL} showed a tendency for lower daily weight gain (11%, $P = 0.06$), and had a worse feed efficiency (10%, $P = 0.02$) compared to the DP and SEQ_{LH}. However, SEQ_{LH} and DP animals showed similar performance ($P < 0.05$). Urinary N excretion was higher (17%, $P = 0.03$) and N retention (%) tended to be lower for SEQ_{HL} animals compared to SEQ_{LH} animals (7%, $P = 0.08$). However, animals from DP and SEQ_{LH} showed similar N balance ($P < 0.05$). Plasma concentrations of preprandial glucose were higher for SEQ_{HL} animals compared to DP and SEQ_{LH} animals (5%, $P = 0.04$). On day 7, serum concentrations of total protein and preprandial albumin were higher for SEQ_{LH} animals compared to DP and SEQ_{HL} animals (43 and 38%; $P < 0.01$). The animals from SEQ_{HL} had higher serum concentration of postprandial urea than those from DP and SEQ_{LH} (28%; $P < 0.01$). Therefore, in this first study it was concluded that the provision of diets with low and high levels of AA in the morning and afternoon meals, respectively, can improve the protein metabolism of growing pigs. In the second study the objective was to evaluate the performance, body composition and nutrient balance of pigs fed diets with different levels of decrease and increase in AA concentration in the first and last 12 hours of the day, respectively. A total of 68 barrows (initial body weight 25 ± 2.67 kg) were distributed in a randomized block design (body weight) in four treatments (17 animals per treatment): daily feeding program (SD), where a diet containing 100% of the AA concentration was provided 24 hours a day; and three sequential feeding programs (SEQ), with different levels of variation in the concentration of AA, in which the pigs received a diet with a reduction (-20, -30, -40%) in the concentration of AA from 0000 to 1159 h (period 1; P1) and increase (+20, +30, +40%) from 1200 to 2359 h (period 2; P2), respectively. The experiment lasted 82 days (25 to 100 kg), divided into three experimental phases. Statistical analyzes consisted of evaluating the comparison between feeding programs

(DP vs SEQ), and linear and quadratic responses according to the increase in the concentration of AA levels in the diet. During phase 1, average daily feed intake, daily lysine intake, body weight and body protein tended ($P < 0.09$) to increase quadratically with increasing variation in dietary AA levels, while body lipid increased ($P < 0.03$) quadratically with increasing variation in dietary AA levels. During phase 2, feed efficiency increased ($P = 0.01$) linearly with increasing variation in dietary AA levels, while weight gain and protein gain tended ($P = 0.09$) to increase linearly with increasing variation in dietary AA levels. During phase 3, the animals in the SEQ, when compared to the DP group, showed similar performance and body composition ($P > 0.05$), however a tendency for a higher N excretion was observed (12%; $P = 0.05$). Therefore, the results of the present study indicate that adjusting dietary AA concentrations according to the circadian rhythm (catabolism and anabolic state) improves protein deposition for pigs from 25-50 kg. In addition, this adjustment tends to increase daily weight gain, body weight and body protein for pigs from 50-70 kg. These better responses were observed in a 40% decrease and increase in the first and last twelve hours of the day, respectively, in the diet amino acid levels recommendation.

Key-words: anabolism, catabolism, nutritional requirement, nutritional programs, swine production.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 Introdução

As previsões indicam que em 2050 a população mundial passará a ter aproximadamente 10 bilhões de pessoas, o que representará um aumento de 22% comparado a população atual (ONU, 2019). Nesse sentido, a produção de alimentos impreterivelmente terá que aumentar de forma a acompanhar esse aumento da população mundial. Contudo, essa produção adicional de alimentos, tanto de origem vegetal quanto animal, deverá continuar adotando e buscando técnicas de produção que reduzam e minimizem os impactos ambientais causados pelos sistemas de produção. Nesse contexto, o conhecimento do potencial nutritivo dos alimentos associado ao ajuste da composição nutricional das dietas à exigência nutricional dos animais é fundamental para avançar para uma nutrição mais precisa que reduza custo e impacto ambiental na produção de suínos.

Na nutrição atual dos suínos, as dietas fornecidas aos animais apresentem boa digestibilidade e alto valor nutricional. No entanto, ainda existem oportunidades para reduzir custos e impacto ambiental no que se refere a forma como a composição nutricional das dietas é ajustada às exigências nutricionais dos animais. Atualmente, o sistema de alimentação por fases é o que predomina na produção de suínos. Nesse sistema os animais são alimentados com uma única dieta por um longo período, onde parte da fase os animais recebem nutrientes acima das suas respectivas exigências. Nesse sentido, vários estudos têm demonstrados que um sistema de alimentação que permite ajustes diários da composição nutricional das dietas às exigências nutricionais dos animais permite reduzir custo e impacto ambiental na produção de suínos comparado ao convencional por fases (Andretta et al., 2014; Pomar et al., 2014). Contudo, sistemas que considerem possíveis variações nas exigências nutricionais dos animais ao longo do dia ainda são pouco avaliados.

Aspectos da fisiologia animal, incluindo a motilidade do trato gastrointestinal, funções renais, hepáticas e secreção de hormônios são influenciados pelo ciclo circadiano, podendo acontecer com menores ou maiores frequências e intensidades de acordo com o período do dia (Reppert e Weaver, 2002). Dentro desse contexto, especula-se que o ritmo circadiano da alimentação e do estado metabólico têm

impacto direto na digestão, absorção e metabolismo dos nutrientes. Isso sugere que essas variações circadianas podem afetar a demanda por nutrientes dos suínos ao longo do dia. Portanto, o presente estudo aportará informações importantes relacionadas ao impacto do ajuste da concentração de nutrientes da dieta de acordo com o ritmo circadiano, no metabolismo e desempenho de suínos em crescimento e terminação.

1.3 Referências

- Albrecht U (2012) Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks. **Neuron** 74: 246-260.
- Andretta I, Pomar C, Kipper M, Hauschild L, Rivest J (2016) Feeding behavior of growing–finishing pigs reared under precision feeding strategies. **Journal of animal science** 94: 3042-3050.
- Andretta I, Poma C, Rivest J, Pomar J, Lovatto P, Radünz Neto J (2014) The impact of feeding growing–finishing pigs with daily tailored diets using precision feeding techniques on animal performance, nutrient utilization, and body and carcass composition. **Journal of Animal Science** 92: 3925-3936.
- Aschoff J (1957). Aktivitätsmuster der tagesperiodik. **Naturwissenschaften** 44: 361-367.
- Aschoff J (1966) Circadian activity pattern with two peaks. **Ecology** 47: 657-662.
- Bailey SM, Udoh US, Young ME (2014) Circadian regulation of metabolism. **Journal of Endocrinology** 222: R75-R96.
- Boumans IJ, de Boer IJ, Hofstede GJ, la Fleur SE, Bokkers EA (2017) The importance of hormonal circadian rhythms in daily feeding patterns: An illustration with simulated pigs. **Hormones and behavior** 93: 82-93.
- Bouvarel I, Chagneau A, Lescoat P, Tesseraud S, Leterrier C (2008) Forty-eight-hour cycle sequential feeding with diets varying in protein and energy contents: adaptation in broilers at different ages. **Poultry science** 87: 196-203.
- Bubenik G, Pang S, Cockshut J, Smith P, Grovum L, Friendship R, Hacker R (2000) Circadian variation of portal, arterial and venous blood levels of melatonin in pigs and its relationship to food intake and sleep. **Journal of pineal research** 28: 9-15.

- Cipolla-Neto J, Amaral F, Afeche S, Tan D, Reiter R (2014) Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review. **Journal of pineal research** 56: 371-381.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira – grãos, Brasília, v. 7, safra 2019/20, n. 5, Quinto levantamento, fev 2020. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras>. Acesso em: janeiro de 2021.
- Dallman MF, la Fleur SE, Pecoraro NC, Gomez F, Houshyar H, Akana SF (2004) Minireview: glucocorticoids—food intake, abdominal obesity, and wealthy nations in 2004. **Endocrinology** 145: 2633-2638.
- Dawson D, Encel N (1993) Melatonin and sleep in humans. **Journal of pineal research** 15: 1-12.
- Dhillon WS, Chaudhri OB, Patterson M, Thompson EL, Murphy KG, Badman MK, McGowan BM, Amber V, Patel S, Ghatei MA (2005) Kisspeptin-54 stimulates the hypothalamic-pituitary gonadal axis in human males. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism** 90: 6609-6615.
- Dibner C, Schibler U, Albrecht U (2010) The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. **Annual review of physiology** 72: 517-549.
- Douris N, Kojima S, Pan X, Lerch-Gaggl AF, Duong SQ, Hussain MM, Green CB (2011) Nocturnin regulates circadian trafficking of dietary lipid in intestinal enterocytes. **Current biology** 21: 1347-1355.
- Feddes J, Young B, DeShazer J (1989) Influence of temperature and light on feeding behaviour of pigs. **Applied Animal Behaviour Science** 23: 215-222.

- Hauschild L, Lovatto PA, Pomar J, Pomar C (2010) Estimation journalière des besoins nutritionnels individuels des porcs en croissance en fonction de leur parcours de croissance et de consommation. **Journées Recherche Porcine** 42, 99-105.
- Hussain MM, Pan X (2015) Circadian regulation of macronutrient absorption. **Journal of biological rhythms** 30: 459-469.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia E Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Ano da Safra: 2019, Rio de Janeiro. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: janeiro de 2021.
- Jacobson L, Sapolsky R, (1991) The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. **Endocrine reviews** 12: 118-134.
- Jacobson MD, Weil M, Raff MC (1997) Programmed cell death in animal development. **Cell** 88: 347-354.
- Jha PK, Challet E, Kalsbeek A (2015) Circadian rhythms in glucose and lipid metabolism in nocturnal and diurnal mammals. **Molecular and cellular endocrinology** 418: 74-88.
- Koopmans SJ, van der Meulen J, Dekker R, Corbijn H, Mroz Z, Group AS (2005) Diurnal rhythms in plasma cortisol, insulin, glucose, lactate and urea in pigs fed identical meals at 12-hourly intervals. **Physiology & behavior** 84: 497-503.
- Mason IC, Qian J, Adler GK, Scheer FA (2020) Impact of circadian disruption on glucose metabolism: implications for type 2 diabetes. **Diabetologia** 63, 462-472.
- Montminy M, Boucher C, Pomar C, Dubeau F, Dussault J (2005) Impact de la méthode de formulation et du nombre de phases d'alimentation sur le coût d'alimentation et les rejets d'azote et de phosphore chez le porc charcutier. **Journées Recherche Porcine** 37: 25-32.

- Nelson D, Cox M (2014) **Lehninger Principles of Biochemistry** (Wiley a. Company Ed. ed.). New York.
- NRC (2012) **Nutrient requirements of swine**. National Academies Press.
- ONU. Organização das nações unidas - Departamento de Assuntos Econômicos e Sociais. Ano da estimativa: 2019. Disponível em: <https://www.un.org/en/development/desa/population>. Acesso em: abril de 2021.
- Pan X, Hussain MM (2009) Clock is important for food and circadian regulation of macronutrient absorption in mice. **Journal of lipid research** 50: 1800-1813.
- Pomar C, Barnett G, (1994) Feeding strategies for fast growing lean pigs and its consequences on nitrogen pollution. A modelling approach, Séminaire BASF Guelph.
- Pomar C, Pomar J, Dubeau F, Joannopoulos E, Dussault JP (2014) The impact of daily multiphase feeding on animal performance, body composition, nitrogen and phosphorus excretions, and feed costs in growing–finishing pigs. **Animal** 8: 704-713.
- Qandeel HG, Duenes JA, Zheng Y, Sarr MG (2009) Diurnal expression and function of peptide transporter 1 (PEPT1). **Journal of Surgical Research** 156: 123-128.
- Qian J, Scheer FA (2016) Circadian system and glucose metabolism: implications for physiology and disease. **Trends in Endocrinology & Metabolism** 27: 282-293.
- Reppert SM, Weaver DR (2002) Coordination of circadian timing in mammals. **Nature** 418: 935-941.
- Roldan M, Rose AJ, Herzig S (2014) Glucocorticoid hormones and energy homeostasis. **Hormone molecular biology and clinical investigation** 19: 117-128.

- Sanders E, Wride M (1995) Programmed cell death in development. **International review of cytology**. Elsevier, p. 105-173.
- Santos, L.S.d., Pomar, C., Campos, P.H.R.F., da Silva, W.C., Gobi, J.d.P., Veira, A.M., Fraga, A.Z., Hauschild, L., 2018. Precision feeding strategy for growing pigs under heat stress conditions. *Journal of animal science* 96: 4789-4801.
- Seraphim PM, Sumida DH, Nishide FT, Lima FB, Cipolla Neto J, Machado UF (2000) A glândula pineal e o metabolismo de carboidratos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia** 44: 331-338.
- Silva WC, Campos PHRF, Santos LSd, Veira AM, Fraga AZ, Hauschild L (2021) Sequential feeding with diets varying in amino acid content for growing-finishing pigs. **Scientia Agricola** 78: e20190241.
- Strobl JS, Thomas MJ (1994) Human growth hormone. **Pharmacological Reviews** 46: 1-34.
- Tahara Y, Shibata S (2013) Chronobiology and nutrition. **Neuroscience** 253: 78-88.
- Tast A, Love RJ, Evans G, Telsfer S, Giles R, Nicholls P, Voultios A, Kennaway DJ (2001) The pattern of melatonin secretion is rhythmic in the domestic pig and responds rapidly to changes in daylength. **Journal of pineal research** 31: 294-300.
- Theorell T, (2009) Anabolism and catabolism at work, In: Sabine, S., Pamela, L.P., Daniel, C.G. (Eds.), **Current Perspectives on Job-Stress Recovery**, Emerald Group Publishing Limited, p. 249-276.
- Van der Peet-Schwering C, Jongbloed A, Aarnink A (1999) Nitrogen and phosphorus consumption, utilisation and losses in pig production: The Netherlands. **Livestock Production Science** 58: 213-224.

- Wangsness PJ, Gobble JL, Sherritt GW (1980) Feeding behavior of lean and obese pigs. **Physiology & behavior** 24: 407-410.
- Welsh DK, Takahashi JS, Kay SA (2010) Suprachiasmatic nucleus: cell autonomy and network properties. **Annual review of physiology** 72: 551-577.
- Zhang J, Qiu J, Zhou Y, Wang Y, Li H, Zhang T, Jiang Y, Gou K, Cui S (2018) LIM homeobox transcription factor Isl1 is required for melatonin synthesis in the pig pineal gland. **Journal of Pineal Research** 65: e12481.
- Zhang Y, Zhou X, Zhang B, Wu X, Yin Y (2017) Diurnal rhythm in mRNA expression of genes encoding amino acid transporter and circadian gene cry in intestinal mucosa of piglets. **Biological Rhythm Research** 48: 663-671.

CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

No atual cenário de crescimento demográfico e perspectivas para aumento da produção de alimentos, onde o conceito de sustentabilidade deve ser levado em consideração, o ajuste da composição nutricional da dieta à exigência nutricional dos animais é uma importante ferramenta para obtenção de bons resultados. Dentro dos programas nutricionais para suínos, o ajuste da composição nutricional da dieta realizado diariamente traz benefícios ambientais e econômicos quando comparado ao ajuste de acordo com a fase crescimento do animal. No entanto, estratégias que reduzam ainda mais custos e impacto ambiental, com possibilidade de aumentar as respostas de crescimento dos suínos devem ser estudadas.

Dentro desse contexto, objetivou-se com a presente tese avaliar uma estratégia de ajuste da composição de aminoácidos da dieta ao longo do dia para suínos em crescimento e terminação. Essa estratégia pode ser justificada com base no ritmo circadiano, que orchestra todas as atividades fisiológicas dos animais dentro de um período de, aproximadamente, 24 horas. Dentro do ritmo circadiano, os nutrientes podem ser melhor absorvidos em determinado momento ao longo de um dia. De acordo com as variações circadianas, em animais de comportamento diurno, tem-se observado um catabolismo e anabolismo mais acentuado durante o dia e a noite, respectivamente.

No segundo capítulo dessa tese, o objetivo foi avaliar balanço de nitrogênio e metabolismo de nutrientes de suínos alimentados com dietas com diferentes concentrações de aminoácidos nas refeições da manhã e da tarde, respectivamente. Com esse capítulo concluiu-se que o fornecimento de dietas com baixo e alto nível de aminoácidos nas refeições da manhã e da tarde, respectivamente, melhora o metabolismo da proteína de suínos em crescimento.

No terceiro capítulo, objetivou-se avaliar o desempenho, a composição corporal e o balanço de nutrientes de suínos alimentados com dietas com diferentes níveis de decréscimo e aumento (20, 30 e 40%) na concentração de aminoácidos nas primeiras e últimas 12 horas do dia, respectivamente. Os resultados deste estudo indicaram que o ajuste das concentrações de aminoácidos na dieta de acordo com o ritmo circadiano (estado de catabolismo anabolismo) melhora a deposição de proteína para suínos de

25-50 kg. Além disso, este ajuste tende a aumentar ganho de peso diário, peso e proteína corporal para suínos de 50-70 kg. Essas melhores respostas foram observadas em redução e aumento de 40% nas primeiras e nas últimas doze horas do dia, respectivamente, na recomendação dos níveis de aminoácidos da dieta.

Com base nos estudos realizados na presente tese, o ajuste da composição de aminoácidos da dieta de acordo com o ritmo circadiano de suínos pode ser uma estratégia nutricional para auxiliar os programas de alimentação de suínos em crescimento. No entanto, por se tratar de uma alternativa ainda pouco avaliada, mais estudos são necessários para que de fato essa estratégia possa ser aplicada na produção de suínos.