XI SIMCORTE

XI SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE

***7th INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF BEEF CATTLE
PRODUCTION***

O ENCONTRO DO BOI VERDE-AMARELO

PROMOÇÃO

Departamento de Zootecnia
Universidade Federal de Viçosa

**Viçosa – MG
2018**

Exemplares deste livro podem ser adquiridos na:

Livraria UFV on-line
www.editora.ufv.br
Teleendas: (31) 3899-2234

Diagramação, Digitação e Montagem:

Edson Agostinho Pereira - (31) 3899-2677

Impressão:

Suprema Gráfica - (0xx) 32 3551 2546

Capa e arte:

Alexandre Antônio da Silva – (0xx) 32 9953 1274

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

S612a 2018	<p>Simpósio de Produção de Gado de Corte (11. : 2018 : Viçosa, MG) Anais do XI Simpósio de Produção de Gado de Corte ; 7th International Symposium of Beef Cattle Production : 31 de maio a 02 de junho de 2018, Viçosa, MG / Editores Sebastião de Campos Valadares Filho ... [et al.]. - Viçosa (MG) : UFV, DZO, 2018. xxiv, 524 p. il. ; 22 cm.</p> <p>Tema do encontro: O encontro do boi verde-amarelo. Texto em português e inglês. Inclui bibliografia. DOI: http://dx.doi.org/10.26626/978-85-8179-152-4/res (Resumos). DOI: http://dx.doi.org/10.26626/978-85-8179-152-4/pal (Palestras). ISBN 978-85-8179-152-4</p> <p>1. Bovino de corte - Congressos. I. Valadares Filho, Sebastião de Campos, 1955-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia. III. International Symposium of Beef Cattle Production (7th. : 2018 : Viçosa, MG). IV. Título: SIMCORTE. V. XI Simpósio de Produção de Gado de Corte. VI. 7th International Symposium of Beef Cattle Production. VII. Título.</p> <p>CDD 22. ed. 636.213</p>
---------------	--

**O conteúdo dos artigos contidos nesta publicação é de inteira responsabilidade
dos respectivos autores.**

XI SIMCORTE

XI SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE

7th INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF BEEF CATTLE PRODUCTION

ANAIS

EDITORES

Sebastião de Campos Valadares Filho

Mário Fonseca Paulino

Mário Luiz Chizzotti

Cláudia Batista Sampaio

Diego Zanetti

Luiz Henrique Pereira Silva

Marcos Vinicius Carneiro Pacheco

Felipe Henrique de Moura

Marcos Rocha Manso

Jéssica Marcela Vieira Pereira

Thiago Ramalho Moreira

Ranyeri Oliveira Souza

Erica Garcia Mafort

Samira Silveira Moreira

Valber Carlos Lima Moraes

Natália Galoro Leite

31 de Maio a 02 de Junho

Viçosa – MG – Brasil

2018

XI SIMCORTE

COMISSÃO ORGANIZADORA

Acadêmicos:

Diego Zanetti
Luiz Henrique Pereira Silva
Marcos Vinicius Carneiro Pacheco
Felipe Henrique de Moura
Marcos Rocha Manso
Jéssica Marcela Vieira Pereira
Thiago Ramalho Moreira
Ranyeri Oliveira Souza
Erica Garcia Mafort
Samira Silveira Moreira
Valber Carlos Lima Moraes
Natália Galoro Leite

Professores:

Sebastião de Campos Valadares Filho
Mário Fonseca Paulino
Mário Luiz Chizzotti
Cláudia Batista Sampaio

Funcionários:

Edson Agostinho Pereira
Tábata Romanhol Bette

AGRADECIMENTOS

Aos Professores:

A todos os professores do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, que contribuíram para o sucesso do evento.

Aos Funcionários:

A todos os funcionários do Departamento de Zootecnia, em especial ao Edson, Venâncio, Cleone, Fernanda, Vinícius e Rosana pela boa vontade e colaboração na realização dos preparativos deste evento.

A todos os funcionários da FUNARBE, especialmente à Amanda Veloso Ferreira.

Aos Amigos:

À Tábata Romanhol Bette, pela dedicação na secretaria do evento.

Aos acadêmicos Ana Clara Baião Menezes e Sidnei Antônio Lopes pelo apoio imprescindível como mestre de cerimônia e no uso dos recursos de multimídia das palestras durante o Evento, respectivamente.

A Laura:

A essa grande amiga Laura, Laurinha, queremos agradecer mais do que sua contribuição e compromisso na realização das edições anteriores do Simcorte, mas também por tornar nossas manhãs melhores com um “BOM DIA” sem igual, você é única e sempre estará presente em nossas lembranças. Muito obrigado.

A Aline:

A essa grande amiga Aline, Sinhá, que durante as últimas edições dedicou-se com grande afinho e determinação à organização do nosso evento, suas “broncas” que sempre interpretamos como conselhos e alertas, teve uma grande contribuição para o crescimento do evento. Muito obrigado por tudo, você sempre estará presente em nossa comissão.

Aos Palestrantes:

Pedro Veiga Rodrigues Paulino – *Cargill*
Sebastião de Campos Valadares Filho – *UFV - Viçosa*
Tiago Sabella Acedo – *DSM*
Richard Zinn – *University of California - Davis*
Karen Beauchemin – *Agriculture and Agri-Food Canada*
Andrew P. Foote – *USDA - Agricultural Research Service*
Mozart Fonseca - *The University of Nevada - Reno*
Joanis Tilemahos Zervoudakis – *UFMT - Cuiabá*
Josiane Lage – *Trouw Nutrition*
Mário Fonseca Paulino – *UFV - Viçosa*
Guilherme Cunha Malafaia – *Embrapa Gado de Corte*
Daniel Marinho – *EMA Pantanal*
Bruno José Rodrigues Alves – *EMBRAPA Agrobiologia*
Luiz César Dias Drumond – *UFV - Rio Paranaíba*
Jairo Pereira Neves – *Unifenas*
Pietro Sampaio Baruselli – *FMVZ - USP*
Guilherme Sicca Lopes Sampaio – *Unesp - Botucatu*
Mateus José Rodrigues Paranhos – *Unesp - Jaboticabal*
Mário Luiz Chizzotti – *UFV - Viçosa*
Márcio Machado Ladeira – *UFLA*
Angela Bittencourt – *PecSolutions*

Aos Moderadores

A todos profissionais que moderaram as palestras e
contribuíram com sua sabedoria e experiência:

Sebastião de Campos Valadares Filho
Edenio Detmann
Polyana Pizzi Rotta
Marcio de Souza Duarte
Mário Fonseca Paulino
Cláudia Batista Sampaio
Fernanda Helena Martins Chizzotti
Yamê Fabres
Marcelo Pinto
Mário Luiz Chizzotti

Aos Patrocinadores e Apoiadores:

A todas as empresas, pela participação e confiança, imprescindíveis para a realização deste evento.

ABCZ
ALTA GENETICS
BELLMAN
CAPES
CARGILL
CNPq
CPT
CRMV/MG
DBO
DSM
FAPEMIG
NUTRIPURA
PHIBRO
REHAGRO
Revista BEEF WORLD
SOMA RAÇÕES
TD Software LTDA
VALFRAN

PREFÁCIO

SIMCORTE - O Encontro do Boi Verde-Amarelo

A pecuária de corte passa por uma necessidade contínua de aperfeiçoamento, aumento de produtividade e lucratividade, em um cenário cada vez mais competitivo com outras atividades agrícolas e aumento dos custos de produção. Diante disso, toda a cadeia produtiva da carne deve estar atenta às mudanças, que ocorrem com frequência.

Além disso, um sistema de produção de bovinos de corte que visa à sustentabilidade, requer a compreensão de inúmeros fatores relacionados à implantação, produção e utilização de novas tecnologias e práticas de manejo que estimulem o aumento da produtividade.

Portanto, a divulgação das mais recentes tecnologias geradas no país e no mundo é de extrema importância para o desenvolvimento da pecuária de corte nacional. A realização de eventos que reúnam a experiência de profissionais atuantes em todos os elos da cadeia é uma forma efetiva de difundir conhecimentos e contribuir para formação dos modernos produtores e dos profissionais da área.

Com esse intuito, o SIMCORTE vem sendo realizado desde 1999, estando hoje na sua décima primeira edição, abrangendo as diversas áreas diretamente relacionadas à produção de bovinos de corte.

Os Editores

ÍNDICE PALESTRAS

PROCESSAMENTO DE GRÃOS: O QUE ESPERAR NA PRÓXIMA DÉCADA?	01
<i>Pedro Veiga Rodrigues Paulino</i>	
ALTERNATIVAS NUTRICIONAIS PARA TERMINAÇÃO DO NELORE SUPERPRECOCE	13
<i>Sebastião de Campos Valadares Filho, Ana Clara Baião Menezes, Pedro Del Bianco Benedeti, Sidnei Antônio Lopes, Mário Fonseca Paulino, Fabyano Fonseca e Silva</i>	
SUPLEMENTAÇÃO VITAMÍNICA PARA BOVINOS DE CORTE: BASES CIENTÍFICAS E BENEFÍCIOS PRODUTIVOS.....	47
<i>Tiago Sabella Acedo, Vinícius Nunes de Gouvêa, Guilherme de Souza F. M. de Vasconcellos</i>	
ADDITIVES THAT ALTER RUMINAL FERMENTATION AND GASTROINTESTINAL FUNCTION IN BEEF CATTLE	89
<i>Karen A. Beauchemin, Karen M. Koenig, WenZhu Yang, and Tim A. McAllister</i>	
METABOLIC AND PHYSIOLOGICAL MECHANISMS RESPONSIBLE FOR VARIATION IN FEED EFFICIENCY	115
<i>A. P. Foote</i>	
CENÁRIO ATUAL E PERSPECTIVAS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS EM PASTEJO DO DESMAME AO ABATE	131
<i>Joanis Tilemahos Zervoudakis, Nelcino Francisco de Paula, Pedro Ivo José Lopes da Rosa e Silva, Renata Pereira da Silva Marques, Lucien Bissi da Freiria, Maria Isabel Leite da Silva, Edimar Barbosa de Oliveira, Adriano Jorge Possamai</i>	
DESMAMA PRECOCE E SUPLEMENTAÇÃO VISANDO AUMENTOS NA PRODUTIVIDADE	159
<i>Josiane Fonseca Lage</i>	
MODELOS DIETÉTICOS PARA BEZERROS DE CORTE LACTENTES EM SISTEMAS OTIMIZADOS DE PRODUÇÃO DE CARNE BOVINA	173
<i>Mário Fonseca Paulino, Edenio Detmann, Luciana Navajas Rennó, Ághata Elins Moreira da Silva, Deilen Sotelo Moreno, Marcos Rocha Manso, Victor Valério de Carvalho</i>	
OS DESAFIOS FUTUROS DA SUSTENTABILIDADE NA CADEIA PRODUTIVA DA CARNE BOVINA BRASILEIRA	187
<i>Guilherme Cunha Malafaia</i>	

BALANÇO DE CARBONO E EMISSÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA DA PECUÁRIA BRASILEIRA	207
<i>Bruno J. R. Alves, Segundo Urquiaga, Lucero Sarabia, Rafael C. Monteiro, Claudia P. Jantalia, Robert M. Boddey</i>	
DOENÇAS ASSOCIADAS À REPRODUÇÃO E FATORES QUE IMPACTAM O DESEMPENHO REPRODUTIVO DE GADO DE CORTE: ETIOLOGIA, DIAGNÓSTICO E CONTROLE	229
<i>Jairo Pereira Neves</i>	
NOVAS PERSPECTIVAS NAS TÉCNICAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM GADO DE CORTE	247
<i>Pietro Sampaio Baruselli, Flávia Morag Eliff, Laísa Garcia da Silva, Claudiney Martins, Bernardo Marcozzi Bayeux, Marcos Henrique Alcantara Colli, Rodolfo Daniel Mingoti</i>	
ESTRATÉGIAS PARA REDUZIR PATÓGENOS NA CARNE BOVINA IN NATURA	267
<i>Guilherme Sicca Lopes Sampaio</i>	
PROTEÔMICA E METABOLÔMICA DA QUALIDADE DA CARNE	297
<i>Mario Luiz Chizzotti, Rafael Torres de Souza Rodrigues, Luiz Henrique Pereira Silva, Mauricio Miguel Estrada, Débora Evelyn de Freitas Assis, Pedro Del Bianco Benedeti</i>	
PROTEOMICS AND METABOLOMICS OF MEAT QUALITY	337
<i>Mario Luiz Chizzotti, Rafael Torres de Souza Rodrigues, Luiz Henrique Pereira Silva, Mauricio Miguel Estrada, Débora Evelyn de Freitas Assis, Pedro Del Bianco Benedeti</i>	
NUTRIGENOMIC AND BEEF MARBLING	373
<i>M. M. Ladeira, M. P. Gionbelli, L. M. Rodrigues, P. D. Teixeira</i>	

PROCESSAMENTO DE GRÃOS: O QUE ESPERAR NA PRÓXIMA DÉCADA?

Pedro Veiga Rodrigues Paulino

*Gerente Global de Tecnologia – Bovinos de Corte – Cargill Nutrição Animal.
Pedro_veiga@cargill.com*

INTRODUÇÃO

A indústria de confinamento brasileira tem se desenvolvido e amadurecido de forma bastante contundente nos últimos anos, especialmente a partir do início da década de 90. De acordo com Oliveira & Millen (2014), as operações de confinamento tem se tornado cada vez maiores, levando a mudanças nas recomendações nutricionais e nas práticas de manejo utilizadas. Dentro desse aspecto, as dietas dos confinamentos têm evoluído no sentido de conterem maior participação de concentrado e grãos na matéria seca. Por outro lado, o nível de processamento de grãos recuou nos últimos anos, e uma das conclusões do trabalho de Oliveira & Millen (2014) é que avanços nesse ponto devem ser perseguidos de forma mais veemente, uma vez que a principal fonte de energia utilizada nas dietas é o milho Flint ou duro.

O milho “flint” caracteriza-se por apresentar maior proporção do seu endosperma na forma vítrea, em comparação com o milho dentado, o que resulta em menor degradação ruminal do amido (Correa et al., 2002). Em um levantamento realizado no laboratório de metabolismo ruminal da Cargill nos Estados Unidos, envolvendo cerca de 50 amostras de milho coletadas em várias regiões do Brasil, a vitreosidade variou consideravelmente, com amostras contendo 51.5 % de endosperma vítreo, e outras com valores ao redor de 78.4%! Dessa forma, processamentos mais extensivos do milho flint trariam mais benefícios nutricionais, zootécnicos e econômicos do que do milho dentado (Gouvêa et al., 2016).

O milho sempre será a principal fonte de energia em dietas de animais confinados. Sua inclusão, no entanto, dependerá de diversos fatores, como seu preço e a disponibilidade e custo de

eventuais alimentos substitutos, sendo os principais: sorgo, casca de soja, polpa cítrica, caroço e torta de algodão, milheto, entre outros. Conhecendo-se o valor nutricional desses alimentos, seus preços, e os impactos que podem causar em variáveis chave, como consumo de matéria seca, ganho de peso e eficiência alimentar, torna-se possível definir os níveis de inclusão nas dietas de forma a minimizar o custo da matéria seca e otimizar o custo do ganho de carcaça. Há cenários em que o milho será praticamente a única fonte de energia da dieta, com inclusões acima de 65 – 70 %, enquanto que em outras será apenas um dos ingredientes da dieta, com inclusões variando de 30 – 60 %. Portanto, há vários cenários possíveis e todos eles com suas justificativas, sejam elas de ordem técnica ou econômica. Outros fatores importantes, como tipo de alimento volumoso disponível, disponibilidade e inclusão da fonte de fibra, qualidade do manejo e da mão de obra, capacidade de armazenamento e processamento, também atuarão de forma conjunta na definição do nível de inclusão de grãos nas dietas.

Conforme tem sido noticiado no Brasil nos últimos anos, a safra nacional de grãos vem batendo recorde atrás de recorde. De acordo com levantamento realizado pela MB Agro, usando dados da Conab, na safra 2014 / 2015 foram plantados 57.9 milhões de hectares com grãos no país, que resultaram em uma safra de 207.77 milhões de toneladas. Em apenas três anos, ou seja, na safra 2017/2018, o Brasil aumentou a área planta para 60.5 milhões de hectares, e a produção para algo em torno de 223.58 milhões de toneladas. Portanto, a disponibilidade de grãos, notadamente milho, tem aumento nos últimos anos.

Por outro lado, a demanda também segue mesma tendência. Fato é que no ano de 2016 as cotações do milho atingiram valores estratosféricos, em função de uma conjuntura de fatores que envolveu quebra de safra em função de condições climáticas adversas, e demanda aquecida por setores em franca expansão, como produção de aves e suínos. E nos próximos anos, a tendência deve se manter, com o agravante do surgimento de outro dreno importante de milho, que para muitos era quase que

impossível de surgir no Brasil: a produção de etanol a partir do milho e / ou sorgo.

Embora produzir etanol a partir de cana-de-açúcar seja mais eficiente do que de milho do ponto de vista energético, conjunturas estruturais tem viabilizado a operação de usinas de etano de milho no Brasil, sejam exclusivas ou as do tipo flex, que operam parte do ano com cana, e na entressafra da mesma, usam milho ou sorgo no seu processo produtivo. Usinas em operação podem ser encontradas nos estados de Goiás, Mato Grosso, São Paulo e diversos projetos de novas usinas tem surgido. Um exemplo claro dessa tendência é o município de Lucas do Rio Verde, em Mato Grosso, onde uma grande usina de produção de etanol exclusiva de milho ou sorgo está em operação, com projeto de expansão, associada a outras que iniciarão sua operação em breve, serão responsáveis, juntamente com a produção de aves, suínos e bovinos na região, por absorver toda a produção de milho do município, estimada em 13.5 milhões de sacas /ano.

A razão principal para processar grãos é melhorar seu valor nutritivo, que é uma função complexa que envolve o conteúdo nutricional, características físicas e químicas do alimento que afetam a digestibilidade, aceitabilidade (palatabilidade) e interações associativas com o processo digestivo (Zinn et al., 2011). Existem diversos métodos de processamento de grãos, e a escolha de qual utilizar depende de uma avaliação abrangente que leve em consideração qual resultará na melhoria da digestibilidade de forma mais econômica, sem causar efeito deletérios sobre o pH ruminal e disfunções digestivas. Conforme discutido anteriormente, os benefícios do processamento são ainda mais evidentes no milho Flint cultivado no Brasil, visto que apresenta maior impedimento à digestão do amido em função de uma espessa matriz protéica que recobre os grânulos de amido. Processamentos a seco, como moagem, melhoram a digestibilidade do amido através do aumento da superfície específica das partículas menores, aumentando, portanto, a velocidade de colonização pelas bactérias ruminais. Entretanto, em pouco alterar a matriz protéica, que é rompida por

processamentos que envolvam umidade e temperatura, como floculação, ensilagem. Portanto, os fatores mais limitante ao aproveitamento do amido em bovinos de corte referem-se a tamanho de partícula e acesso dos microrganismos ruminais ao grânulos de amido, e não deficiências enzimáticas, especialmente no rúmen. É sabido que ruminantes apresentam deficiência na secreção de amilase pancreática, o que limitaria a digestão de amido no intestino grosso. Trabalhos recentes têm sugerido que amilases exógenas, quando infundidas no abomaso, podem promover uma melhoria temporária na digestibilidade intestinal de amido em animais não adaptados, mas em pouco tempo (alguns dias) esse efeito se dissipa (Westreicher-Kristen et al., 2018).

Considerando o crescimento das estruturas de confinamento e a redução das margens de lucro, deve-se buscar cada vez mais investir em detalhes que tragam eficiência para a operação e redução do custo da arroba produzida. E o processamento de grãos é uma delas.

PRINCIPAIS TIPOS DE PROCESSAMENTO DE GRÃOS UTILIZADOS NOS CONFINAMENTOS BRASILEIROS

Uma das características do Brasil como país produtor de carne bovina é a grande heterogeneidade dos sistemas de produção, sendo possível encontrar confinamentos que utilizam as mais diversas formas de processamento de grão. Desde dietas à base de milho grão inteiro, associado a um pellet protéico – vitamínico – mineral, passando por processamentos a seco (moagem, principalmente), e finalmente, tecnologias em que há maior extensão do uso do amido, como floculação ou milho grão úmido.

O tipo de processamento a ser empregado em cada situação específica vai depender de inúmeros fatores, envolvendo escala da operação, disponibilidade de grãos e subprodutos, estrutura, mão de obra e seu grau de capacitação, capacidade de investimento, nível de maturidade quanto ao uso de tecnologia, tipo de animal

confinado, e objetivo em termos de qualificação da carcaça a ser produzida, dentre outros.

De acordo com Oliveira & Millen (2014), o método de processamento mais usado pelos confinamentos atendimentos pelos principais nutricionais brasileiros é a quebra do milho, ou moagem mais grosseria (57.6 %). O seguinte foi a moagem fina (36.4 %), ficando a produção de grão úmido e floculação com participação ínfima (3 % cada um). Esses resultados demonstram que há grandes oportunidades em obter maior eficiência no uso do milho nos confinamentos brasileiros através de um processamento mais extensivo. No Brasil, há apenas três confinamentos comerciais com estrutura de floculação em pleno funcionamento, sendo dois no estado de Goiás e um em Minas. O custo médio desse tipo de processamento tem girado em torno de R\$ 33 a 47 / ton, considerando, inclusive, depreciação do equipamento ao longo de 10 anos. Guiroy et al. (2016) calcularam qual deveria ser a melhoria na eficiência alimentar para que o custo com a floculação se pagasse em confinamentos de 5.000 ou 20.000 animais de capacidade estática, e concluíram que, em comparação a dietas com milho moído grosso, os incrementos deveriam ser da ordem de 1.5 a 2.4 %. Estudos recentes realizados no Brasil com floculação de milho flint têm encontrado melhorias na eficiência alimentar muito superiores aos valores que seriam necessários para pagar a tecnologia (Gouveia et al., 2016; Marques et al., 2016), deixando claro que há espaços para o aumento no uso de floculadores nos confinamentos brasileiros. Os maiores limitantes, no entanto, dizem respeito ao alto investimento inicial, falta de mão de obra capacitada para operar os equipamentos e falta de know - how na manutenção periódica dos equipamentos.

Uma das formas de se avaliar a eficiência com que o amido é usado pelos animais é através da análise do amido fecal, que tem uma alta correlação com a digestibilidade desse nutriente no trato gastrointestinal. Trabalho realizado por Caetano (2008), envolvendo confinamentos comerciais no Brasil, encontrou valor médio de amido fecal de 8.6 % em dietas à base de milho e 13.2 % em dietas

em que a principal fonte de energia utilizada foi o sorgo. No entanto, a variação foi bastante significativa, com valores mínimo e máximo de, respectivamente, 0.1 e 30.5 % (dietas à base de milho) e 0.6 e 41.6 % (sorgo). Ou seja, uma amplitude muito grande e que demonstra que há espaço para melhorias no processamento de grãos no Brasil.

A moagem do milho a seco é extensivamente usada no Brasil, sendo empregados moinhos de martelo e de rolo, esse último em menor escala em função da pior homogeneidade do tamanho de partículas resultantes do seu uso. Em situações em que o pecuarista também é agricultor e produz o próprio grão a ser usado na engorda dos animais, alternativas interessantes ao uso do milho seco têm sido cada vez mais usadas, com benefícios interessantes, não só de ordem nutricional, como também agrônomicas. A mais conhecida e já empregada há vários anos no Brasil é a silagem de grãos úmidos, em que o milho é colhido quando atinge o ponto de maturidade fisiológica, ou ponto preto na base do grão, com umidade ao redor de 28 %, porém variando de 25 a 30 % (Costa et al., 1999). A colheita é feita normalmente com colheitadeira de grãos, e o milho é moído e então ensilado. Um dos problemas na confecção da silagem de grão úmido em confinamentos de maior escala é a complexidade operacional. O Brasil ainda não conta com equipamentos mais robustos e de maior capacidade de moagem de milho grão úmido, de forma que as operações de colheita e moagem / ensilagem ocorrem de forma dessincronizada. Isso limita o uso desse tipo de processamento em operações de maior porte. O armazenamento dos grãos úmidos de milho em “silos bolsa” também tem permitido maior massificação em seu uso sem necessidade de investimentos em estruturas de silos tipo trincheira. Quando bem acondicionado e mantendo-se o silo bag em boas condições, especialmente evitando-se que seja perfurado por animais domésticos ou mesmos silvestres, o alimento pode ser armazenado por tempo ilimitado, mantendo suas características nutricionais por tempo bastante razoável.

Para operações de maior escala, uma alternativa que tem se mostrado bastante interessante é o earlage, ou silagem da espiga úmida. Nada mais é do que colher apenas a espiga, moê-la e ensilar o material. Com isso, elimina-se a operação de moagem, visto que o mesmo equipamento que colhe a espiga também realiza a moagem. Utiliza-se uma colhedora de forragem automotriz, com a plataforma de colheitadeira de grãos. Portanto, é necessário fazer uma adaptação na colhedora de forragem, trocando sua plataforma original pela de colher grãos. A grande maioria das empresas prestadoras de serviço de confecção de silagens já conta com essa opção, visto que do ponto de vista mecânico, essa adaptação é simples de ser realizada. O earlage é colhido no mesmo ponto de colheita do grão úmido, sendo a única diferença o método de colheita e o material resultante, que além dos grãos de milho, apresentará em sua constituição palha da espiga e sabugo. Em estudo realizado no Mato Grosso envolvendo diversas instituições e empresas parceiras, Pajanoti (2018) testou doze híbridos diferentes para confecção de earlage e encontrou uma variabilidade significativa em termos de produtividade por hectare (14.91 – 18.7 ton / ha), e composição. Os teores de grãos, palha e sabugo na massa ensilada variam, respectivamente, de 63.61 – 75.47 %; 7.59 – 16.78 %; e 16.17 – 19.59 %.

Para os pecuaristas que não possuem área suficiente disponível para produzir seu próprio grão e que precisam se abastecer de milho ou sorgo de terceiros, uma das formas de otimizar o amido utilizado seria através do processo de reidratação, em que água é adicionada aos grãos previamente moídos de forma a elevar sua umidade de volta a 28 – 35 %, quando são então ensilados. Desde que seja dado tempo suficiente para que a matriz protéica se rompa completamente, o que ocorre por volta de 60 – 90 dias após a ensilagem, a reidratação pode resultar em melhorias no desempenho dos animais. O efeito mais marcante do uso de grãos de milho úmido ou reidratado é a redução no consumo de matéria seca, manutenção do ganho e consequente melhoria da eficiência alimentar. Pacheco (2018), trabalhando com milho e

sorgo reidratados em dietas de bovinos de corte em confinamento, encontraram uma melhoria na eficiência alimentar da ordem de 11 %, demonstrando maior disponibilidade do amido e melhor uso da energia disponível nos grãos pelos animais.

Uma nova opção de ingredientes advindos do processamento do milho para produção de etanol são os grãos de destilaria. Embora relativamente recentes no Brasil, seu uso na alimentação de bovinos de corte, seja em confinamento ou a pasto, já é bastante difundido e conhecido nos Estados Unidos, com inúmeros trabalhos publicados nos últimos anos. Resumidamente, quando o amido dos grãos de milho são convertidos em etanol, todos os demais nutrientes se concentram em torno de 3 vezes. Isso ocorre porque para cada tonelada de milho, o rendimento médio obtido é de 1/3 de etanol, 1/3 de CO₂ resultante do processo, e 1/3 de subprodutos. Existem diversas tecnologias disponíveis e utilizadas hoje no mercado da indústria para produzir etanol a partir de milho ou sorgo, gerando, como consequência, uma gama diversa de subprodutos, com diversas variações possíveis. Os produtos mais conhecidos disponíveis para o uso em dietas de bovinos de corte são o WDGS (*wet distillers grains with solubles*) e o DDGS (*dry distillers grains with solubles*), nos quais os solúveis resultantes do processo são adicionados à porção sólida dos subprodutos. Porém, há, como citado anteriormente, diversas variações desses produtos, com valores nutricionais diferentes. Nos últimos anos, por exemplo, grande parte das plantas começou a extrair parte do óleo de milho presente nesses subprodutos, gerando dúvidas quanto ao seu valor energético. Estudos recentes, no entanto, têm demonstrado que o desempenho dos animais alimentados com os grãos de destilaria com menores teores de extrato etéreo não tem sido negativamente impactados, como previamente se imaginava (Jolly-Breithaupt et al., 2018). No Brasil, trabalhos recentes realizados tanto em confinamento (Ferreira et al., 2018) quanto a pasto (Possamai 2018) demonstraram os benefícios do uso desses alimentos, com manutenção ou mesmo melhorias dos resultados zootécnicos em comparação a dietas à base de milho, mas com

economia significativa no custo do ganho de peso produzido. Em termos gerais, os teores de proteína, extrato etéreo e FDN desses alimentos têm variado de forma importante, dependendo do tipo de processamento adotado pela indústria de etanol, e da remoção ou não de parte do óleo ou mesmo da proteína desses alimentos. O WDGS tradicional apresenta em torno de 12.4 % de EE, 29.3 % de PB e 51.5 % de FDN.

Um dos limitantes ao uso mais expressivo de grãos de destilaria nos Estados Unidos é a alta concentração de enxofre nesses subprodutos em virtude do uso de ácido sulfúrico no processo de fermentação, para controle do pH e inibição do crescimento de bactérias durante a fermentação, além de também ser empregado na limpeza dos tanques. No Brasil utilizam-se ácidos mais fracos, com o cítrico, além de água quente para limpeza dos tanques, de forma que o conteúdo de S nos grãos de destilaria produzidos no Brasil está dentro de uma faixa de valores bem mais segura. Recomenda-se que a dieta final não tenha mais do que 0.4% de S na matéria seca total, sob riscos de redução de consumo e desempenho, além de possibilidade de desenvolvimento de pólio-encefalomalácia.

Com o aumento da volatilidade no mercado das commodities agrícolas, e a profissionalização crescente dos confinamentos brasileiros, espera-se que se aumente a busca por processamentos mais extensivos dos grãos de cereais. Essa tendência traz grandes oportunidades, como também desafios que devem ser identificados e diretamente endereçados de forma que os benefícios do maior processamento do milho / sorgo possam ser totalmente absorvidos. Mais pesquisas precisam ser conduzidas no Brasil com as diferentes formas de processamento de milho, envolvendo níveis e tipo de inclusão de volumosos e subprodutos nas dietas; uso de aditivos, tempo de armazenamento de grãos ensilados úmidos ou reidratados; níveis de WDGS / DDGS e interação com outros ingredientes da dieta, etc.

REFERÊNCIAS

- Correa, C.E.S., Shaver, R.D., Pereira, M.N., Lauer, J.G., Kohn, K. 2002. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. **Journal of Dairy Science**. 85, 3008 – 3012.
- Costa, C., Arrigoni, M.D.B., Silveira, A.C., Chardulo, L.A.L. 1999. Silagem de grãos úmidos. In: Simpósio sobre nutrição de bovinos, 7. **Anais...** Piracicaba: FEALQ. 1999. p.69-88.
- Ferreira, M.S, Niehues, M.B., Tomaz, L.A., Fogaça, L.A., Paulino, P.V.R., Martins, C.L., Arrigoni, M.B., Machado Neto, O.R. 2018. Levels of wet distillers grains for F1 Angus – Nellore bulls finished in feedlot: dry matter intake and performance. In: 10th International Symposium on the Nutrition of Herbivores. 2018. Clermont- Ferrand, França. 4p.
- Gouvêa, V.N., Batistel, F., Souza, J., Chagas, L.J., Sitta, C., Campanili, P.R.B., Galvani, D.B., Pires, A.V., Owens, F.N., Santos, F.A.P. 2016. Flint corn grain processing and citrus pulp level in finishing diets for feedlot cattle. **Journal of Animal Science**. 94, 665 – 677.
- Guiroy, P., Campos, G., Castro, H. 2017. Grain processing economics. In: 7^o Simpósio sobre Bovinocultura de Corte – Congresso Internacional de Bovinocultura de Corte. **Anais...** São Pedro. 8p.
- Jolly-Breithaupt, M.L., Nuttelman, B.L., Schneider, C.J., Burken, D.B., Gramkow, J.L., Shreck, A.L., MacDonald, J.C., Klopfenstein, T.J., G.E. Erickson. 2018. Finishing performance and diet digestibility for feedlot steers fed corn distillers grains plus solubles and distillers solubles with and without oil extraction. 2018. **Journal of Animal Science**. 96, 1996-2011.
- Marques, R.S., Chagas, L.J., Owens, F.N., Santos, F.A.P. 2016. Effects of various roughage levels with whole flint corn grain on performance of finishing cattle. **Journal of Animal Science**. 94, 339-348.
- Oliveira, C.A., Millen, D.D. 2014. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. **Animal Feed Science and Technology**. 197, 64-75.
- Pacheco, M.V.C. 2018. Efeito da ensilagem dos grãos de milho e sorgo reidratados sobre o desempenho e características de carcaça de bovinos Nelore superprecoces. **Dissertação de Mestrado**. UFV. 72p.
- Pajanoti, A.E.G. 2018. Influência da maturidade da planta de diferentes híbridos de milho no rendimento e na qualidade nutricional da silagem de espiga (“earlage”). **Dissertação de Mestrado**. UFMT. 66p.

- Possamai, A.J. 2018. Grãos de destilaria e óleo de soja em estratégias de terminação de bovinos a pasto. **Tese de doutorado**. UFMT. 88p.
- Westreicher-Kristen, E. Robbers, K., Blank, R., Tröscher, A., Dickhoefer, U., Wolfram, S., Susenbeth, A. 2018. Postruminal digestion of starch infused into the abomasum of heifers with or without exogenous amylase administration. **Journal of Animal Science**. 96, 1939-1951.
- Zinn, R.A., Barreras, A., Corona, L., Owens, F.N., Plascencia, A. 2011. Comparative effects of processing methods on the feeding value of maize in feedlot cattle. **Nutrition Research Reviews**. 24, 183-190.

ALTERNATIVAS NUTRICIONAIS PARA TERMINAÇÃO DO NELORE SUPERPRECOCE

Sebastião de Campos Valadares Filho¹, Ana Clara Baião Menezes², Pedro Del Bianco Benedeti³, Sidnei Antônio Lopes³, Mário Fonseca Paulino¹, Fabyano Fonseca e Silva¹

¹Professor Departamento de Zootecnia – Universidade Federal de Viçosa; ²Doutoranda em Zootecnia - Universidade Federal de Viçosa; ³Pós doutorando em Zootecnia - Universidade Federal de Viçosa

INTRODUÇÃO

O Brasil possui papel de destaque no cenário internacional como grande produtor e exportador de carne bovina, ocupando a 3ª posição mundial em abate de bovinos (Anualpec, 2017). Apesar do crescente número de animais confinados (Pinto e Millen, 2016), o sistema de produção brasileiro é baseado principalmente em animais criados a pasto, tendo como grupo genético mais utilizado o *Bos taurus indicus*, particularmente animais Nelore ou anelorados. De acordo com Fernandes et al. (2015), os índices zootécnicos nacionais (idade a primeira cria, idade de abate e produção de carne por hectare) são inferiores aos obtidos por outros países tradicionalmente produtores de carne, como Estados Unidos e Argentina.

Segundo dados do IBGE (2018), nos três primeiros trimestres de 2017, cerca de 19,7 milhões dos bovinos abatidos em território nacional foram de animais com idade superior a dois anos, enquanto que o abate de novilhos, considerados os animais com idade inferior a dois anos, foi de apenas três milhões de cabeças aproximadamente. Isso mostra que a pecuária brasileira é caracterizada pela produção e terminação de bovinos com idades mais avançadas. Apesar disso houve um crescimento do abate de novilhos, pois dados do IBGE (2018) demonstraram que houve aumento de aproximadamente 10,15% no número novilhos abatidos no terceiro trimestre de 2017 em relação ao mesmo período de 2016.

O sistema de produção convencional ou tardio, implica em maior permanência dos animais no rebanho, com idades de abate superiores a 48 meses, resultando em menor lucratividade e maior impacto sobre o meio ambiente, especialmente no que diz respeito à emissão de gases do efeito estufa. Assim, visando minimizar o impacto negativo econômico e ambiental deste sistema e aumentar as taxas de desfrute, uma alternativa que vem sendo adotada é a criação de bovinos superprecoces.

Ao contrário dos novilhos precoces, que passam pela 1ª seca à pasto, são terminados em confinamento e abatidos aos 24 meses; os novilhos superprecoces recebem alimentação suplementar no *creep-feeding* durante a cria, são desmamados aos 8-9 meses e confinados, sendo abatidos com 13-14 meses de idade. Segundo dados da Associação Sul-Mato-Grossense de Criadores de Novilho Precoce (ASPNP), animais superprecoces apresentam maior custo de produção, porém o giro de capital é três vezes mais rápido que o do gado criado a pasto. Ainda, é possível abater animais com 13 meses de idade com 20 arrobas ou mais, e, considerando-se o preço da @ superior à R\$80,00, já é possível obter lucro (ASPNP, 2016).

Para utilizar animais com características de precocidade no sistema intensivo, alguns cuidados devem ser tomados, como o correto manejo alimentar, entender as características da curva de crescimento, definir raças e cruzamentos mais compatíveis em cada situação e, acima de tudo, determinar qual sistema de produção é economicamente mais viável (Fernandes et al., 2015).

CARACTERIZAÇÃO DO SUPERPRECOCE À NÍVEL NACIONAL

O modelo do novilho superprecoces explora a máxima eficiência biológica dos animais, ou seja, a relação entre o ganho de peso vivo e o consumo de energia, sendo este um excelente sistema intensivo de criação de bovinos e, conseqüentemente, de produção de carne (Hadlic et al., 2013). O sistema concilia os efeitos da manipulação de fatores genéticos e nutricionais (alimentos, manejos alimentares e suplementos) nas

transformações e desenvolvimento dos tecidos durante a fase acelerada de crescimento, objetivando o aumento da eficiência biológica dos animais (Silveira, 1999). A taxa, a eficiência de ganho de peso e as características de carcaça são os maiores determinantes da eficiência de sistemas de produção de carne bovina.

Considerando a curva de crescimento mostrada na Figura 1, de acordo com Silveira e Arrigoni (2005), na fase de cria, do nascimento ao desmame, como a conversão alimentar é de apenas 2,5 kg de matéria seca consumida por kg de ganho produzido, é interessante a suplementação dos bezerros no *creep-feeding*, permitindo ganhos adicionais ao desmame de 1 a 1,5 arrobas, ou seja, 30 a 45 kg, suficientes tanto para compensar o custo do alimento fornecido, como para apurar algum retorno econômico. Após o desmame, durante a fase do confinamento, embora o consumo de alimentos aumente para aproximadamente 7,0 a 8,0 kg MS/dia, a conversão alimentar é ainda muito boa (5,1 a 5,3:1), se comparada com o confinamento de bovinos mais velhos (acima de 8:1), que já ultrapassaram a puberdade e que terão apenas crescimento no tecido adiposo.

Figura 1 - Conversão alimentar de bovinos nas fases de cria, crescimento e terminação. (Adaptada de Silveira e Arrigoni, 2005).

O ponto de partida para se estabelecer o sistema superprecoce está na escolha das raças, uma vez que a precocidade é uma característica herdável e a escolha dos animais deve recair nas raças, linhagens, ou mesmo indivíduos mais eficientes, ou seja, raças menores que alcancem a puberdade primeiro (Silveira, 1999). De acordo com Silveira (2000), bovinos de raças de menor porte ou médio porte (Nelore, Angus, Hereford, Brangus, Canchim, Senepol, entre outras) atingem acabamento mínimo de carcaça mais jovens e com menor peso que raças grandes, tendem ainda a apresentar boa cobertura de gordura com menor peso vivo e portanto mais precocemente se adequando mais a ciclos curtos de produção.

Há três estratégias de utilização dos recursos genéticos para produção de carne de animais superprecoces, sendo elas a

utilização de animais de uma raça pura melhor adaptada ao sistema de produção existente, a formação de novas raças, combinando características desejáveis de duas ou mais raças puras e a utilização de cruzamentos.

Pesquisadores da Unesp, Campus Botucatu (Silveira e Arrigoni, 2005) destacaram como principais raças e cruzamentos utilizados para produção de novilho superprecoce nesta instituição: Brahman, Angus, Simental, Santa Gertrudis, Braunvieh, Brangus, Simbrasil, Canchim, Angus x Braunvieh, Angus x Brahman, e Angus x Bosmara, com idade média de abate de 14,7 meses e rendimento médio de carcaça de 55%. O uso de cruzamentos e os benefícios da heterose em bovinos superprecoces foram também estudados por vários autores como Bianchini et al. (2008), Rubiano et al. (2009), Rotta et al. (2009), Mourão et al. (2010) e Souza et al. (2012). De acordo com dados da ASPNP (2016), o uso de cruzamentos *tricross* envolvendo Nelore (25%), Angus (50%) e Limousin (50%) vem ganhando destaque entre os pecuaristas, permitindo o abate de machos com 20 @ aos 13 meses de idade e fêmeas da mesma idade com até 15 @.

Animais da raça Nelore também apresentam potencial para produção de novilhos superprecoces, desde que sejam adotadas técnicas de planejamento genético, manejo nutricional e reprodutivo. A seleção das matrizes, a escolha de bons reprodutores, provados em programas de melhoramento genético com resultados positivos para atributos economicamente importantes como, por exemplo, ganho de peso e biotipo funcional uso de inseminação artificial por tempo fixo (IATF), fertilização in vitro (FIV), transferência de embriões e ultrassom de carcaça, são ferramentas indispensáveis na produção de Nelore superprecoce.

Poucas pesquisas trabalharam exclusivamente com bovinos Nelore, objetivando animais superprecoces, porém esta já vem se tornando uma realidade no cenário da pecuária nacional, como mostrado por Viegas (2015), onde propriedades do Mato Grosso do Sul utilizam a técnica do *creep-feeding*, desmamam bezerros Nelore aos 8 meses de idade, pesando até 300 kg, confinam os

animais por um período de quatro a seis meses e abatem os mesmos com uma média de 450kg.

Como animais Nelore e anelorados perfazem a maior parte do rebanho nacional e possuem características de interesse como rusticidade, habilidade materna e precocidade na deposição de gordura na carcaça, é importante desenvolver mais pesquisas com animais deste grupo genético. Assim, o objetivo desse trabalho foi mostrar estratégias nutricionais a serem adotadas para terminação de novilhos Nelore superprecoces.

PRINCIPAIS ALIMENTOS UTILIZADOS NOS CONFINAMENTOS BRASILEIROS

O consumo e utilização dos nutrientes tem relação direta com o desempenho animal, e para otimizar os parâmetros produtivos, os constituintes da dieta assim como a relação volumoso:concentrado adotada devem ser corretamente ajustados de forma a atender às exigências do animal. Rações com teores mais altos de grãos propiciam ganho de peso mais rápido, melhor conversão alimentar, carcaças com melhor acabamento e rendimento e, menores custos operacionais no confinamento, podendo tornar a atividade mais rentável (Arrigoni et al., 2013).

De acordo com Pinto e Millen (2016), o nível médio de inclusão de forragem nas dietas de terminação é de 20,6%, sendo a silagem de milho o principal volumoso, seguida pelo bagaço de cana-de-açúcar-de-açúcar, silagem de capim, silagem de sorgo e cana-de-açúcar. De acordo com estes autores, o uso de cana-de-açúcar *in natura* triturada vem diminuindo devido ao aumento no tamanho dos confinamentos, o que dificulta a logística de fornecimento deste volumoso (corte, transporte, moagem e fornecimento). Assim, o uso de forragens conservadas vem ganhando destaque.

A proporção de concentrado adotada nos confinamentos brasileiros é aproximadamente 79,4% (Pinto e Millen, 2016), valor inferior ao utilizado nos confinamentos norte-americanos, 91% (Samuelson et al., 2016), e levemente superior aos levantamentos

anteriores, de 79% (Oliveira e Millen, 2014). O milho é o grão mais utilizado, sendo o método de processamento mais utilizado a moagem fina, seguida pela moagem grossa, grãos quebrados, silagem de grão úmido e floculação. O processamento permite melhor utilização dos nutrientes pelos bovinos, não só por aumentar a superfície específica para atuação enzimática, mas também por aumentar a degradação do amido e consequentemente a utilização de energia. Dentre os ingredientes protéicos, o farelo de soja é o mais utilizado, tanto pela facilidade na aquisição deste produto quanto pelas características de suas frações proteicas e teor proteico.

Milho e farelo de soja podem ser considerados alimentos padrão/tradicionais nas dietas de bovinos. O milho é utilizado como fonte de amido, sendo o principal componente energético dos concentrados. O amido apresenta disponibilidade energética superior à dos carboidratos estruturais presentes na dieta dos ruminantes. A presença de amido é fundamental na exploração de animais de alta produção, os quais exigem níveis elevados de energia na dieta. Já o farelo de soja é a principal fonte proteica na alimentação dos bovinos, apresenta alta porcentagem de proteína degradável no rúmen (PDR), é palatável e de alta digestibilidade.

O sorgo é o segundo alimento energético mais utilizado (Oliveira e Millen, 2014), sendo por vezes usado como substituto ao milho. Apesar da composição química semelhante, o valor energético do sorgo é de 85 a 90% do valor energético do milho. Com relação ao farelo de soja, os substitutos mais utilizados são farelo de algodão, farelo de amendoim, torta de algodão e farelo de girassol (Oliveira e Millen, 2014).

Dados de Pinto e Millen (2016) mostraram que o uso de coprodutos vem diminuindo em relação aos levantamentos anteriores (Oliveira e Millen, 2014; Millen et al., 2009), devido principalmente à adoção de métodos de processamento de grãos, como citado anteriormente, aumentando a disponibilidade energética da dieta. Ainda assim, o caroço de algodão merece

destaque como coproduto mais utilizado, seguido pela polpa cítrica, casca de soja e torta de algodão.

O caroço de algodão é o principal ingrediente lipídico presente nas dietas de terminação dos confinamentos brasileiros (teor de extrato etéreo de 18,90% na MS; CQBAL 3.0). Além de possuir elevado teor de fibra (41,9% FDNcp na MS), sendo altamente efetivo em estimular ruminação e manter um bom ambiente ruminal. A polpa cítrica e a casca de soja são dois alimentos ricos em pectina, sua inclusão nas dietas permite a substituição de parte dos alimentos ricos em amido (como milho e o sorgo), propiciando benefícios à nutrição dos ruminantes, já que a degradação ruminal da pectina não contribui para o abaixamento do pH, porque não gera ácido lático. Já a torta de algodão possui elevado teor proteico (aproximadamente 30% PB de acordo com CQBAL 3.0) e teor de extrato etéreo variável de acordo com o método de extração utilizado.

Na época da entressafra da cana-de-açúcar, o uso do milho para produção de etanol gera resíduos de destilaria que vem sendo utilizados na alimentação animal. Os grãos secos (DDGS) ou úmidos (WDDGS) de destilaria apresentam maior concentração de nutrientes devido à remoção do amido, elevando a proteína de 10% para cerca de 30% e a PNDR para aproximadamente 60%. A indústria de carne bovina norte americana usa coprodutos de destilaria de milho há décadas, tendo diversas pesquisas para avaliar seu uso na alimentação de bovinos (U.S. Grains Council, 2012). Um desafio para o uso de DDGS é determinar o seu teor de nutrientes. Assim como acontece com outros coprodutos, as concentrações de nutrientes podem variar muito (Tjardes e Wright, 2002). Fatores como seleção dos grãos, tipo de fermentação, temperatura e duração de secagem podem influenciar as propriedades nutricionais e físicas de DDGS (Spiehs et al., 2002). O nível de inclusão recomendado é de 20% até 40% da MS da dieta para evitar excesso de proteína, P e S.

Com o aumento da proporção de concentrado, problemas de saúde como a acidose são frequentemente reportados (Pinto e

Millen, 2016; Oliveira e Millen, 2014). Assim é observado aumento na adoção de aditivos alimentares com o objetivo de melhorar as características de fermentação e aumento da utilização de nutrientes. Aditivos ionóforos são os mais utilizados, assim como associação entre antibióticos ionóforos e não ionóforos (Pinto e Millen, 2016).

Este panorama geral dos principais alimentos adotados em confinamentos brasileiros mostra a importância do conhecimento das propriedades e composição química dos alimentos para formulação de dietas. É fundamental ainda, adotar um sistema de exigências nutricionais cujo banco de dados seja o mais próximo possível da realidade do produtor, contribuindo com maior acurácia na estimativa das exigências e formulação nutricional.

ESTRATÉGIAS NUTRICIONAIS ADOTADAS PARA BOVINOS SUPERPRECOSES EM CONFINAMENTO NO DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA DA UFV

Suplementação mineral para bovinos Nelore superprecoces

Os minerais, embora estejam presentes no corpo animal em menor proporção que outros nutrientes, como proteína e gordura, desempenham funções vitais no organismo, e suas deficiências podem acarretar alterações nutricionais graves, levando o animal a apresentar respostas produtivas e reprodutivas aquém de seu potencial (Suttle, 2010; Wilson et al., 2016)

Essas funções podem ser exercidas apenas se quantidades suficientes dos minerais consumidos forem absorvidas e retidas, a fim de manter o crescimento, desenvolvimento e reprodução (Suttle, 2010). Os alimentos comumente utilizados na alimentação de bovinos de corte podem fornecer estes nutrientes (Genther e Hansen, 2014), entretanto, as concentrações são variáveis (Smart et al., 1981) o que pode interferir negativamente no desempenho animal.

Assim como a deficiência mineral, seu excesso também não é desejado, visto que estes são eliminados via fezes e urina,

contaminando o solo e cursos d'água. Isto demonstra a importância do correto balanceamento das dietas com base no conhecimento das exigências nutricionais de cada categoria animal.

De acordo com Millen et al. (2009), 83,1% dos nutricionistas adotam a suplementação mineral nos confinamentos brasileiros. Porém, estudos recentes de Costa e Silva et al. (2015) e Prados et al. (2015) mostraram que a suplementação de Ca e P para bovinos Nelore e cruzados (Holandês x Zebu) em regime de confinamento pode não ser necessária se as quantidades presentes nos alimentos forem adequadas.

Devido à carência de dados a respeito das exigências minerais de bovinos Nelore superprecoces, Zanetti et al. (2017) desenvolveram um estudo para estimá-las, utilizando dietas com ou sem suplementação de Ca, P e microminerais.

De acordo com Oliveira e Millen (2014), as exigências de minerais propostas pelo NRC (1996) são as mais adotadas na formulação de dietas nos confinamentos brasileiros. Porém, estas são baseadas principalmente em raças taurinas (*Bos taurus taurus*), enquanto a maioria de nosso rebanho é composta por Nelore e mestiços zebuínos (*Bos taurus indicus*), portanto animais com necessidades nutricionais distintas.

Dentre os poucos trabalhos nacionais publicados envolvendo estimativas de exigências nutricionais de animais Nelore, destacam-se os de Costa e Silva et al. (2015), que trabalharam com machos não castrados, machos castrados e fêmeas em crescimento, e Zanetti et al. (2017) que trabalharam com machos Nelore superprecoces não castrados. Estes dois trabalhos contribuíram com as recomendações para o cálculo de exigências dietéticas do BR-CORTE (2016). Na Tabela 1 é mostrado um comparativo entre as estimativas de exigência de minerais propostas pelo NRC (2016), BR-CORTE (2016), Zanetti et al. (2017) e Costa e Silva et al. (2015).

As estimativas de exigências minerais divergem entre os estudos/sistemas devido às dificuldades na mensuração da concentração de microminerais em alimentos e tecidos animais,

tipo de alimento, raça, idade e status fisiológico (CSIRO, 2007). Deve-se considerar que Zanetti et al. (2017) foram os únicos a trabalharem exclusivamente com animais Nelore superprecoces.

Em estudo complementar, Zanetti (2017) avaliou os efeitos da suplementação ou não de Ca, P e microminerais para animais desta categoria e grupo genético.

O autor observou que a ausência de suplementação mineral inorgânica (Ca, P, Cu, Mn, Zn e Co) na dieta de bovinos Nelore superprecoces não afetou o CMS, o desempenho e a eficiência dos animais, conforme pode ser observado na Tabela 2. Porém os autores ressaltaram que a ausência de suplementação mineral pode influenciar a concentração destes no soro sanguíneo, fígado e ossos.

Tabela 1 - Comparação das exigências nutricionais de um bovino Nelore de 400 kg, com ganhos de 1 kg/dia, por diferentes sistemas e estudos

Estudo	Ca	P	Na	K	Mg	S	Cu	Zn	Mn	Co	Fe	Mo
	g/dia						mg/dia					
NRC (2016)	33,6	16,3	6,80	50,60	8,40	12,7	84,4	253,2	168,8	0,80	422	
BR-CORTE (2016)	21,67	14,66	9,31	23,25	7,65	12,15	63,28	454,2	184,9	6,26	1659	2,71
Zanetti et al. (2017)	24,2	8,1	13,9	25,50	7,60	4,50	40,2	78,60	169,9	2,50	1556,3	2,50
Costa e Silva et al. (2015)	11,1	17,3	7,1	20,60	7,30	5,60	77,2	334,5	54,70	27,3	1593,9

Tabela 2 - Consumo de matéria seca, desempenho e eficiência alimentar de bovinos Nelore superprecoces recebendo ou não suplementação de Ca, P e microminerais

Itens	Com suplementação				Sem suplementação				SEM		P-valor	
	SH100	SC100	CS100		SH0	SC0	CS0				Dieta	Suplem. Diet x Supl.
CMS (kg/d)	7,68	7,55	7,47		7,56	7,67	7,32		0,30		0,784	0,914
PCi (kg)	272,86	278,57	275,71		260,71	270,86	275		12,15		0,721	0,871
GMD (kg/d)	1,17	1,11	1,11		1,11	1,16	1,07		0,07		0,744	0,736
GPCVZ (kg/d)	1,14	1,07	1,13		1,12	1,08	1,05		0,06		0,738	0,767
RCQ (%)	58,99	58,84	59,08		58,9	57,53	58,75		0,56		0,321	0,516
EGS (mm)	3,70	4,06	4,80		3,71	3,51	3,78		0,59		0,567	0,685
EA	0,1522	0,1473	0,1483		0,147	0,1506	0,1474		0,0066		0,95	0,801
Ca (g/kg)	3,72	3,40	3,38		2,02	1,13	1,49					
P (g/kg)	2,05	2,03	2,35		1,54	1,80	1,98					

¹CMS= consumo de matéria seca; PCi= peso corporal inicial; GMD=, ganho médio diário; GPCVZ= ganho de peso de corpo vazio; RCQ= rendimento de carcaça quente; EGS= espessura de gordura subcutânea; EA= eficiência alimentar; Ca= teor de cálcio nas dietas; P= teor de fósforo nas dietas.

EFEITO DA REIDRATAÇÃO E ENSILAGEM DOS GRÃOS DE MILHO E DE SORGO NA DIETA DE BOVINOS NELORE SUPERPRECOSES

Como citado anteriormente, os confinamentos brasileiros vem adotando maiores teores de concentrado (Pinto e Millen, 2016). A maior proporção de concentrado (grãos e outros ingredientes) está relacionada à melhoria da digestibilidade das dietas e da conversão alimentar dos animais (Salomão et al., 2015; Silva, 2015), podendo proporcionar redução nas operações do confinamento e no tempo de confinamento, o que resultaria em aumento na produtividade e lucratividade do sistema. Atualmente, o milho é o principal constituinte energético utilizado nas dietas de bovinos nos confinamentos brasileiros, seguido pelo sorgo (Oliveira e Millen, 2014).

O aumento dos níveis de grãos nas dietas traz grandes vantagens sobre diversos aspectos produtivos e econômicos, porém, existem problemas inerentes a essa prática como, por exemplo, a concorrência direta pela utilização dos grãos com a indústria alimentícia e a flutuação dos preços destes insumos nos períodos de safra e entressafra. Uma forma de controle da volatilidade nos preços dos grãos é o armazenamento, que possibilita a compra do produto no período de safra, quando os preços estão menores para utilização no período de entressafra, o que geraria uma economia ao produtor. Entretanto, fungos e insetos somados a ataques de roedores são problemas que têm causado perdas em torno de 15% ao produtor, e estão relacionadas ao armazenamento inadequado do produto (Embrapa, 2015).

Milho e sorgo são importantes fontes de amido, porém as cultivares de milho utilizadas no Brasil apresentam maior proporção de endosperma vítreo, ou seja, os grânulos de amido formam uma estrutura compacta e densa e são envoltos por uma matriz proteica espessa e contínua, tornando-os menos acessíveis às enzimas amilolíticas.

O método de processamento do grão pode acarretar em melhora na digestibilidade, quando comparado a sua forma natural

(Owens et al., 1986). O processo de reidratação baseia-se em devolver ao grão maduro, seco e moído, a umidade adequada de 30 a 40% (Andrade Filho, 2010), para que o mesmo possa ser fermentado após a ensilagem (Defoor et al., 2006). A temperatura, umidade e as ações das proteases microbianas produzidas durante o processo de ensilagem podem causar a quebra da matriz proteica que recobre os grânulos de amido, ou até mesmo da própria estrutura desses grânulos, aumentando assim a área exposta à ação enzimática dos microrganismos (Hoffman e Shaver, 2011), o que possibilita a melhora da capacidade fermentativa do rúmen, aumentando a síntese de proteína microbiana e a produção de ácidos graxos voláteis (Allen et al., 2009).

Neste contexto, Pacheco (2018) realizou um experimento para avaliar os efeitos da reidratação e ensilagem do milho e sorgo sobre o consumo, desempenho e características de carcaça de bovinos Nelore machos não castrados superprecoces.

As dietas às quais os animais foram submetidos foram as seguintes: milho moído seco (MMS), sorgo moído seco (SMS), silagem de milho moído reidratado (SMR) e silagem de sorgo moído reidratado (SSR). Todas as dietas foram compostas por 28,44% de silagem de milho, 60,83% de grãos e 10,73% de suplemento protéico mineral como mostrado na Tabela 3.

Tabela 3 - Proporção dos ingredientes das dietas experimentais utilizadas por Pacheco (2018) para bovinos Nelore machos não castrados superprecoces

Itens	Milho		Sorgo	
	Seco	Reidratado	Seco	Reidratado
Proporção dos ingredientes (% MS)				
Silagem de milho	28,4	28,4	28,4	28,4
Milho moído	60,8	-	-	-
Milho moído reidratado	-	60,8	-	-
Sorgo moído	-	-	60,8	-
Sorgo moído reidratado	-	-	-	60,8
Farelo de soja	6,75	6,75	6,75	6,75
Nutroneef®	2,94	2,94	2,94	2,94
Ureia + Sulfato de amônia (9:1)	1,04	1,04	1,04	1,04

A reidratação e ensilagem do milho e do sorgo resultou em menor CMS e maior digestibilidade da MS em relação ao fornecimento destes grãos moídos secos. Não foi observado efeito significativo dos tipos de grãos (milho e sorgo) e tipo de processamento (secos ou reidratados e ensilados) sobre os parâmetros de desempenho produtivo e características de carcaça. Contudo, para a eficiência alimentar houve efeito do tipo de grão e do processamento, sendo a eficiência melhor para animais alimentados com grãos de milho em relação àquelas contendo sorgo e também melhor para animais alimentados com as silagens dos grãos reidratados em relação aos grãos moídos secos. (Tabela 4).

Tabela 4 - Efeito da reidratação e ensilagem do milho e do sorgo sobre o consumo e digestibilidade da matéria seca, desempenho e características de carcaça de machos Nelore não castrados superprecoces

Itens ¹	Milho		Sorgo		EPM	P-Valor		
	Seco	Reidratado	Seco	Reidratado		Grão	Proc.	G x P
CMS	7,72	5,99	7,23	6,71	0,378	0,756	0,008	0,124
DMS	0,66	0,73	0,63	0,68	0,0109	0,0011	<0,0001	0,393
PVJf	458	438	431	444	17,1512	0,5473	0,8479	0,3475
GMD	1,34	1,22	1,10	1,18	0,09062	0,1543	0,8488	0,2790
GMCD	0,85	0,78	0,77	0,75	0,05224	0,2841	0,3579	0,6044
EA	0,17	0,19	0,15	0,17	0,00993	0,0292	0,0412	0,7406
PCQ	275	264	265	265	10,3231	0,6510	0,5783	0,5842
RCQ	0,60	0,60	0,62	0,60	0,00586	0,3312	0,2150	0,1333
EGS	5,08	4,39	5,17	3,54	0,58210	0,5249	0,0598	0,4273

¹CMS, consumo de matéria seca; DMS, digestibilidade da matéria seca; PVJf, peso vivo em jejum final; GMD, ganho médio diário; GMCD, ganho médio de carcaça diário; EA, eficiência alimentar; PCQ, peso de carcaça quente; RCQ, rendimento de carcaça quente; EGS, espessura de gordura subcutânea.

Os resultados deste experimento mostraram que a ensilagem dos grãos de milho e de sorgo após a reidratação resultou em redução no consumo de matéria seca e aumento da digestibilidade da maioria dos constituintes das dietas. O desempenho e as características de carcaça não foram afetados pela reidratação, contudo os animais alimentados com os grãos ensilados após a reidratação apresentaram maior eficiência alimentar.

NÍVEL DE PROTEÍNA BRUTA NA DIETA DE NOVILHOS NELORE SUPERPRECOSES

A proteína é considerada um dos mais nobres nutrientes, pois está relacionada com funções vitais como composição de tecidos estruturais, enzimas, hormônios, receptores hormonais e composição de material genético (Boye et al., 2012). Assim, garantir adequado suprimento proteico aos animais significa provê-los de um nutriente essencial para manutenção de sua homeostase, propiciando a produção de carne de forma eficiente (Marcondes et al., 2010).

De acordo com Oliveira e Millen (2014), os confinamentos comerciais utilizam altos teores de proteína bruta (PB) nas dietas de animais em terminação, até 16,6 % de PB, como estratégia de estimular o consumo de matéria seca e reduzir o período de confinamento. Porém, a maioria dos nutrientes consumidos pelos animais são excretados nas fezes e na urina, apenas 10 a 20% dos nutrientes consumidos são retidos no corpo do animal (McBride et al., 2003). Além disso, entre 30 a 50% do nitrogênio (N) dietético é perdido via volatilização, principalmente na forma de amônia (Todd et al., 2005). A emissão de amônia pelos ruminantes é maior que a dos demais animais domésticos (Bouwman et al., 1997), contribuindo com a eutrofização e acidificação dos ecossistemas (Cowling e Galloway., 2001), e esta quantidade de amônia é afetada pelo nível de PB da dieta (Burgos et al., 2010). Existe ainda uma forte correlação entre o consumo de proteína e excreção fecal e urinária de nitrogênio (Sinclair et al., 2014).

Assim, o impacto da alimentação de animais confinados sobre o meio ambiente torna-se uma preocupação crescente (Patra e Lalhriatpui., 2016), visto que maiores consumos de MS estão relacionados com maiores emissões de amônia, N, P, CH₄ e demais poluentes (Berends et al., 2014, Chaokaur et al., 2015). Além disso, o desbalanceamento das rações também representa perda econômica decorrente dos custos com alimentação (Appuhamy et al., 2014), sendo a proteína, considerada o nutriente mais caro da dieta.

Neste contexto, Menezes (2018, dados em processamento) avaliou os efeitos de diferentes níveis de PB na dieta de machos Nelore não castrados superprecoces, sobre o consumo, eficiência, desempenho e características de carcaça. Foram adotadas as seguintes dietas experimentais: teor constante de 10,5 % PB (B); teor constante de 12,5% PB (M); teor constante de 14,5% PB (A); teor oscilante de PB (14,5% - 10,5%) a cada 48 horas (A-B); teor oscilante de PB (14,5% - 12,5%) a cada 48 horas (A-M) e teor oscilante de PB (12,5% - 10,5%) a cada 48 horas (M-B). As exigências desta categoria animal foram calculadas previamente, através do BR-CORTE (2016), sendo estimadas em 12,5% de proteína bruta, sendo este o nível adotado como médio (M) neste experimento.

Dados prévios mostram que não houve diferenças para o CMS o GMD e a eficiência alimentar, sugerindo que a adoção de níveis proteicos de até 10,5% não comprometem o desempenho produtivo dos animais.

DESEMPENHO PRODUTIVO E CONSUMO DE MATÉRIA SECA OBTIDOS NO DZO-UFV

O banco de dados foi composto por 4 experimentos realizados no Laboratório de Nutrição de Ruminantes e Confinamento Experimental do DZO/UFV: Prados et al. (2017), Zanetti et al. (2017), Menezes (2018 dados em processamento) e Pacheco (2018). Foram utilizados um total de 140 machos Nelore superprecoces, não castrados. A estatística descritiva dos dados destes zebuínos encontra-se na Tabela 5.

Tabela 5 - Estatística descritiva dos dados de machos Nelore superprecoces terminados em confinamento nos experimentos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa

Itens	N ¹	Média	DP ²	Mínimo	Máximo
Peso corporal em jejum inicial	144	272,73	32,87	188	340
Peso corporal em jejum final	144	428,71	46,75	291	548
Peso de corpo vazio inicial	144	244,41	29,62	169,98	307,41
Peso de corpo vazio final	144	396,05	44,42	260,85	496,5
Ganho médio diário	144	1,19	0,17	0,71	1,75
Ganho de peso de corpo vazio	144	1,14	0,15	0,73	1,66
Ganho de carcaça diário	144	0,74	0,11	0,4	1,09
Eficiência alimentar	144	0,17	0,02	0,12	0,23
Consumo de matéria seca	144	7,18	0,73	5,13	8,72

¹N = número de animais utilizados; ²DP = desvio padrão.

Os bovinos Nelore superprecoces utilizados nos experimentos do Laboratório de Nutrição de Ruminantes e Confinamento Experimental do DZO/UFV, foram provenientes da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Bovinos de Corte do DZO/UFV, coordenada pelo Professor Mário Fonseca Paulino.

Todos os bezerros são provenientes de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), nascem nos meses de outubro/novembro e são suplementados no *creep-feeding* a partir dos 3 a 4 meses até a desmama. Dados de experimentos (Lopes et al., 2015, Martins, 2017, Valério, 2018 dados em processamento e Manso, 2018) mostraram que em média os bezerros são desmamados consumindo cerca de 1 kg de concentrado e pesando 270 kg.

Após o desmame, os bezerros são conduzidos diretamente para o confinamento experimental, onde são alojados em baias coletivas dotadas de comedouros e bebedouros eletrônicos (tipo Grow Safe Model AF-1000 Master, Intergado Ltd., Contagem,

Minas Gerais, Brasil), permitindo assim o monitoramento diário não só do consumo de matéria seca e água como também avaliar os comportamentos de dominância entre os animais, tempo de permanência no cocho, relação entre fatores bioclimáticos, comportamento animal e consumo de água, e possíveis influências dos tratamentos nesses parâmetros. Para avaliação do desempenho, os animais são pesados à cada 28 dias e abatidos após 140 dias de confinamento.

Na Figura 2 pode ser observado o comportamento de ganho contínuo destes animais, desde o *creep-feeding* até a terminação. A adoção do *creep-feeding* permite ganhos de 0,9 a 1 kg/cab/dia e um peso médio à desmama de 270 kg, aos 7-9 meses de idade. Ao longo da fase de terminação, os animais apresentam ganhos mínimos de 1 kg/dia, garantindo assim animais prontos para o abate com aproximadamente 450 kg de peso vivo, aos 14-15 meses de idade.

Figura 2 - Curva de crescimento de machos Nelore superprecoces englobando as fases de cria (*creep-feeding*) e terminação (confinamento).

A curva de crescimento acima foi desenvolvida com base no peso dos animais desde os 3 meses de idade (Janeiro, mês 1) até aos 14 meses (Dezembro, mês 12), quando foram abatidos. Foram utilizados os dados dos experimentos de cria e terminação de Lopes et al. (2015) e Prados et al. (2017); Martins (2017) e Zanetti et al. (2017); Valério (2018 dados em processamento) e Pacheco (2018) e Manso (2018) e Menezes (2018 dados em processamento).

Os parâmetros de consumo de matéria seca e desempenho produtivo dos animais na fase de terminação podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6 - Consumo de matéria seca e desempenho produtivo de novilhos Nelore superprecoces terminados em confinamento

Estudo	Dias	PVJi	PVJf	PCVZi	PCVZf	GMD	GPCVZ	GCD	EA	CMS
Prados et al. (2017)	140	272,49	411,53	240,75	377,22	1,17	1,12	0,67	0,17	7,02
Zanetti et al. (2017)	140	271,28	419,35	245,27	384,91	1,15	1,12	0,75	0,16	6,96
Pacheco (2018)	140	270	442,7	247,08	417,25	1,21	1,18	0,79	0,17	7,17
Menezes (2018)	140	275,98	444,64	245,07	411,02	1,23	1,14	0,76	0,16	7,55

PVJi = peso vivo em jejum inicial, PVJf = peso vivo em jejum final, PCVZi = peso de corpo vazio inicial, PCVZf = peso de corpo vazio final, GMD = ganho médio diário, GPCVZ = ganho de peso de corpo vazio, GCD = ganho de carcaça diário; EA = eficiência alimentar, CMS = consumo de matéria seca.

A partir de uma meta-análise, utilizando os dados dos experimentos de Prados et al. (2017), Zanetti et al. (2017), Pacheco (2018) e Menezes (2018, dados em processamento) foi realizada uma análise de regressão, levando em consideração os seguintes parâmetros: consumo de matéria seca (kg/dia e % peso corporal), peso corporal (kg), ganho médio diário (kg/dia) e eficiência alimentar em relação ao número de dias em confinamento, resultando nas equações mostradas na Tabela 7 e nas Figuras 3 e 4.

Tabela 7 - Equações geradas à partir do banco de dados para novilhos Nelore superprecoces

Item	Equação	R2	Ponto Máximo		Ponto Mínimo	
			dia	valor	dia	valor
CMS, kg/dia	$6,6428 + 0,02141x - 0,00012x^2$	0,08	89	7,60	-	-
CMS, %PC	$2,4249 - 0,00513x$	0,39	-	-	-	-
PC, kg	$282,41 + 1,1751x$	0,61	-	-	-	-
GMD, kg/dia	$1,4292 - 0,00341x$	0,14	-	-	-	-
EA	$0,2251 - 0,00150x + 6,747E-06x^2$	0,24	-	-	111	0,14

CMS = consumo de matéria seca (kg/d ou % peso corporal), PC = peso corporal, GMD = ganho médio diário, EA = eficiência alimentar.

Através de teste de médias foi possível avaliar o comportamento do consumo de matéria seca (kg/dia e % PC), peso corporal (kg), ganho médio diário (kg/dia) e eficiência alimentar em função dos períodos experimentais, conforme pode ser observado na Tabela 8 e nas Figuras 5 e 6. Em todos os experimentos foram utilizados cinco períodos experimentais com duração de 28 dias cada, totalizando 140 dias de confinamento.

Tabela 8 - Comportamento das variáveis em função do período experimental para novilhos Nelore superprecoces

Item	Período					EPM	P-valor
	P1	P2	P3	P4	P5		
CMS, kg/dia	6,88b	7,44a	7,52a	7,56a	7,50a	0,08	<0.01
CMS, %PC	2,33a	2,25b	2,06c	1,91d	1,78e	0,02	<0.01
PC, kg	297e	333d	366c	398b	424a	3,10	<0.01
GMD, kg/dia	1,42a	1,22b	1,21b	1,11c	1,00c	0,03	<0.05
EA	0,210a	0,163b	0,160b	0,146c	0,140c	0,005	<0.05

CMS = consumo de matéria seca, PC = peso corporal, GMD = ganho médio diário, EA = eficiência alimentar, P1, P2, P3, P4 e P5 = períodos experimentais 1,2,3, 4 e 5, EPM = erro padrão da média.

Figura 3 - Comportamento do consumo de matéria seca (kg/dia e % peso corporal) e peso corporal (kg) de novilhos Nelore superprecoces em função dos dias de confinamento.

Figura 4 - Comportamento do ganho médio diário (kg/dia) e eficiência alimentar de novilhos Nelore superprecoces em função dos dias de confinamento.

Figura 5 - Comportamento do consumo de matéria seca (kg/dia e % peso corporal) e peso corporal (kg) de novilhos Nelore superprecoces em função dos períodos experimentais

Figura 6 - Comportamento do ganho médio diário (kg/dia) e eficiência alimentar de novilhos Nelore superprecoces em função dos períodos experimentais.

CONCLUSÃO

Novilhos Nelore superprecoces podem ser abatidos com média de 450 kg aos 14 meses de idade em confinamento, desde que sejam adotadas estratégias nutricionais eficientes e suas exigências sejam supridas, otimizando assim o ciclo produtivo.

REFERÊNCIAS

- ALLEN, M. S.; BRADFORD, B. J.; OBA, M. Board-invited review: the hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 87(5), p. 3317-3334, 2009.
- ANDRADE FILHO, R. Reconstituição, inoculação e ensilagem de grãos de milho maduros. In: *Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia*. 47, 2010, Salvador. Anais. Salvador: SBZ, 2010. 1 CD-ROM.
- APPUHAMY, J. A. D. R. N.; NAYANANJALIE, W. A.; ENGLAND, E. M. et al. Effects of AMP-activated protein kinase (AMPK) signaling and essential amino acids on mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling and protein synthesis rates in mammary cells. *J. Dairy Sci*, v. 97, p. 419–429, 2014.
- ARRIGONI, M. de B.; MARTINS, C. L.; SARTI, L. M. N. Níveis elevados de concentrado na dieta de bovinos em confinamento. *Revista de Veterinária e Zootecnia*; v. 20, n. 4, p. 539-551, 2013.
- ASPMP - Associação Sul-Mato-Grossense de Criadores de Novilho Precoce. Disponível em: <https://www.dinheirorural.com.br/secao/agronegocios/boia-a-jato>. Acesso em 15/02/2018.
- BERENDS, H.; VAN DER BORNE, J. J. G. C.; RØJEN, B. A., et al. Effect of protein provision via milk replacer or solid feed on protein metabolism in veal calves. *J. Dairy Sci*, v. 98, p. 1119-1126, 2014.
- BIANCHINI, W., SILVEIRA, A. C., ARRIGONI, M. B., et al. Growth and carcass characteristics of nelore, simmental and crossbreeds young bulls. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 9, p. 554-564, 2008.
- BOYE, J.; WIJESINHA-BETTONI, R.; BURLINGAME, B. Protein quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method. *Brit. journal nutrit*, v.108, p. 183–211, 2012.

- BOUWMAN, A.F.; LEE, D.S.; ASMAN, W.A.H., et al. A global high-resolution emission inventory for ammonia. *Glob. Biochemical Cycles*, v. 11, p. 561-587, 1997.
- BURGOS, S.A.; EMBERTSON, N.M.; ZHAO, Y. et al. Prediction of ammonia emission from dairy cattle manure based on milk urea nitrogen: relation of milk urea nitrogen to ammonia emissions. *Journal of Dairy Science*, v. 93(6), p. 2377-86, 2010.
- CHAOKAUR, A.; NISHIDA, T.; PHAOWPHAISAL, I.; SOMMART, K. Effects of feeding level on methane emissions and energy utilization of Brahman cattle in the tropics. *Agric. Ecosyst. Environ.*, v. 199, p. 225-230, 2015.
- COSTA E SILVA, L. F.; VALADARES FILHO, S. C.; ENGLE, T. E. et al. 2015. Macro minerals and trace element requirements for beef cattle. *PLoS One* 10:e0144464. doi:10.1371/journal.pone.0144464
- COWLING, E.B.; GALLOWAY, J.N. Challenges and opportunities facing animal agriculture: optimizing nitrogen management in the atmosphere and biosphere of the Earth. *J. Anim. Sci.*, v. 80, p. 157-167, 2001.
- CQBAL 3.0. Tabela brasileira de composição de alimentos para bovinos. Disponível em: <http://cqbal.agropecuaria.ws/webcqbal/index.php>. Acesso em 15/02/2018.
- CSIRO - Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization). Nutrient requirements of domesticated ruminants. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization Publications, Collingwood, Australia, 2007.
- DEFOOR, P.J.; BROWN, M.S.; OEWS, F.N. Reconstitution of grain sorghum for ruminants. In: *Cattle Grain Processing Symposium*. Oklahoma. Proceedings. Oklahoma. p.93-98, 2006.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2015. Notícias: Armazenamento inadequado de grãos resulta em cerca de 15% de perdas. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/3860638/armazenamento-inadequado-de-graos-resulta-em-cerca-de-15-de-perdas>. Acesso em: 15/02/2018.
- FERNANDES, G.A.; FERNANDES, F.F.D.; MOUSQUER, C.J.; et al. Produção de novilhos superprecoce a pasto. Uma Revisão. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*. v. 9 (3), p. 553-579, 2015.

- GENTHER, O. N.; HANSEN, S. L. Effect of dietary trace mineral supplementation and a multielement trace mineral injection on shipping response and growth performance of beef cattle. *Journal of Animal Science*. v. 92, p. 2522- 2530, 2014.
- HADLIC, J.C.; CURI, R.A.; SILV, M.G.B.; et al. Maciez da carne bovina e sua relação com o crescimento e os tipos de fibra musculares. *Rev. Acad., Ciênc. Agrár. Ambient.* v. 11, n. 4, p. 421-430, 2013.
- HOFFMAN, P. C.; SHAVER, R. D. The nutritional chemistry of dry and high moisture corn. In: ANNUAL SOUTHWEST NUTRITION AND MANAGEMENT CONFERENCE. University of Wisconsin-Madison, Department of Dairy Science, The University of Arizona, Department of Animal Sciences. p. 12-23, 2011.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Estatística da Produção Pecuária, 2018. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1092>. Acesso em 15/02/2018.
- MARCONDES, M. I.; GIONBELLI, M. P.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Exigências nutricionais de proteína para bovinos de corte. In: Tabelas Brasileiras de Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados. - BR CORTE. Suprema Grafica Ltda, Viçosa, MG, Brazil, 2010. Disponível em: <http://www.brcorte.com.br/br/>.
- MCBRIDE, K.W.; GREENE, L.W.; COLE, N.A., et al. 2003. Nitrogen and phosphorus utilization in beef cattle fed three levels of dietary crude protein and three degradable intake protein/undegradable intake protein ratios. *J. Anim. Sci*, v. 81, p. 73. (Abstr.)
- MILLEN, D.D.; PACHECO, R. D. L.; ARRIGONI, M. D. B. et al. A snapshot of management practices and nutritional recommendations used by feedlot nutritionists in Brazil. *Journal of Animal Science*, v.87, p.3427-3439, 2009.
- MOURÃO, R. C., RODRIGUES, V. C., MOUSTACAS, V. S., et al. Medidas morfométricas de novilhos castrados Nelore e F1 Nelore x Limousin. *Agropecuária Científica no Semiárido*, v. 6, p. 27-32, 2010.
- NRC. Nutrient requirements of beef cattle. 8th rev. ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC, 2016.
- OLIVEIRA, C. A., MILLEN, D. D. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. *Animal Feed Science and Technology*, v. 197, p. 64-75, 2014.

- OWENS, F.N.; ZINN, R.A.; KIM, Y.K. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. *Journal of Animal Science*, v.63, p.1634-1648, 1986.
- PACHECO, M.V.C. Efeito da ensilagem dos grãos de milho e sorgo reidratados sobre o desempenho e características de carcaça de bovinos Nelore superprecoces. Dissertação de mestrado. Departamento de Zootecnia. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. 72p. 2018.
- PATRA, A.K.; LALHRIATPUII, M. Development of statistical models for prediction of enteric methane emission from goats using nutrient composition and intake variables. *Agri. Ecosyst. Environ.*, v. 215, p. 89-99, 2016.
- PINTO, A. C. J.; MILLEN, D. D. Situação atual da engorda de bovinos em confinamento e modelos nutricionais em uso. In: Sebastião de Campos Valadares Filho et al.. (Org.). *Simpósio de Produção de Gado de Corte (X Simcorte)*. 1ed.Viçosa/MG: UFV. v. 1, p. 103-120, 2016.
- PRADOS, L. F.; VALADARES FILHO, S. C.; SANTOS, S. A. et al. Reducing calcium and phosphorus in crossbred beef cattle diets: Impacts on productive performance during the growing and finishing phase. *Anim. Prod. Sci.* v. 55, p. 1369–1374, 2015.
- PRADOS, L.F.; SATHLER, D.F.T.; SILVA, B.C; et al. Reducing mineral usage in feedlot diets for Nellore cattle: II. Impacts of calcium, phosphorus, copper, manganese, and zinc contents on intake, performance, and liver and bone status. *J. Anim. Sci.* v. 95, p. 1766–1776. 2017.
- ROTTA, P. P., PRADO, R. M., PRADO, I. N.; et al. The effects of genetic groups, nutrition, finishing systems and gender of Brazilian cattle on carcass characteristics and beef composition and appearance: a review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, v. 22, p. 1718-1734, 2009.
- RUBIANO G.A.G.; ARRIGONI, M.B.; MARTINS, C.L. et al. Desempenho, características de carcaça e qualidade da carne de bovinos superprecoces das raças Canchim, Nelore e seus mestiços. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.12, p.2490-2498, 2009.
- SALOMÃO, B. M.; VALADARES FILHO, S. C.; VILLELA, S. D. J., et al. Desempenho produtivo de bovinos alimentados com cana-de-açúcar com diferentes níveis de concentrado. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 67, n. 4, p. 1077-1086, 2015.

- SAMUELSON, K. L.; HUBBERT, M.E.; GALYEAN, M.L., LÖEST, C.A. Nutritional recommendations of feedlot consulting nutritionists: The 2015 New Mexico State and Texas Tech University survey. *J Anim Sci.* v. 94(6), p. 2648-63, 2016.
- SILVA, M.R.H. Processamento e ensilagem no valor nutritivo de grãos de milho para novilhos em confinamento. 82p. Tese Doutorado. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil, 2015.
- SILVEIRA, A. C. Sistema de produção de novilhos superprecoces. In: Simpósio Goiano Sobre Produção De Bovinos De Corte. Goiânia. Anais... Goiânia: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 1999. p. 105-122, 1999.
- SILVEIRA, A. C.; ARRIGONI, M. B.; OLIVEIRA, H. N.; et al. Produção do novilho superprecoce. In: Simpósio Internacional de Produção De Gado De Corte, Viçosa. Anais... Viçosa: SIMCORTE, p. 37-53, 2000.
- SILVEIRA, A.C.; ARRIGONI, M.B. Bovino superprecoce produz carnes mais macias. *Visão agrícola* nº3, 2005. Disponível em <http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/va03-sistemas-diferenciados02.pdf> . Acesso em 15/03/2018.
- SINCLAIR, K. D.; GARNSWORTHY, P. C.; MANN, G. E.; SINCLAIR, L. A. Reducing dietary protein in dairy cow diets: implications for nitrogen utilization, milk production, welfare and fertility. *Anim: an internat. J. anim. Biosc.* v. 8, p. 262–74, 2014.
- SMART, M. E.; GUDMUNDSON, J.; CHRISTENSEN, D.A. Trace mineral deficiencies in cattle: A review. *Canadian Veterinary Journal.* v. 22, p. 372–376, 1981.
- SOUZA, E. J. O., VALADARES FILHO, S. C., GUIM, A., et al. Taxa de deposição de tecidos corporais de novilhas Nelore e suas cruzas com Angus e Simental. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 33, p. 344-359, 2012.
- SPIEHS, M. J.; WHITNEY M. H.; SHURSON G. C. Nutrient database for distiller's dried grains with solubles produced from new ethanol plants in Minnesota and South Dakota. *Journal of Animal Science.* v.80, p.2639–2645, 2002.
- SUTTLE N. F. Mineral nutrition of livestock. 4th ed. CABI Publishing, Oxfordshire, UK. 579 p, 2010.
- TJARDES, J.; WRIGHT, C. Feeding corn distiller's coproducts to beef cattle. Extension Extra, ExEx 2036, August, South Dakota State University Cooperative Extension Service, Dept. of Animal and Range Sciences. p. 1-5, 2002.

- U. S. GRAINS COUNCIL. A guide to Distiller's Dried Grains with Solubles (DDGS), U.S. Grains Council DDGS User Handbook – 3rd Edition. Washinton DC, USA, 406p, 2012.
- VALADARES FILHO, S.C.; COSTA E SILVA, L.F.; GIONBELLI, M.P. et al. BR-CORTE – Tabelas Brasileiras de Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados. 3ª edição. Viçosa: UFV, Suprema Gráfica Ltda. 327p, 2016. Disponível em: <http://www.brcorte.com.br/br/>.
- VIEGAS, A. Pecuarista de MS produz bezerro que 'salta' direto da cria para a terminação. Disponível em Agrotebate: <http://g1.globo.com/mato-grosso/agrotebate/noticia/2015/02/pecuarista-de-ms-produz-bezerro-que-salta-direto-da-cria-para-terminacao.html>. Acesso em 20/03/2018.
- WILSON, B. K.; VAZQUEZ-ANON, M.; STEP, D. L.; et al. Effect of copper, manganese, and zinc supplementation on the performance, clinical signs, and mineral status of calves following exposure to bovine viral diarrhea virus type 1b and subsequent Mannheimia haemolytica infection. Journal of Animal Science, 94, 1123-1140, 2016.
- ZANETTI, D.; GODOI, L.A.; ESTRADA, M.M.; et al. Estimating mineral requirements of Nellore beef bulls fed with or without inorganic mineral supplementation and the influence on mineral balance. J. Anim. Sci. v. 95, p. 1696–1706, 2017.
- ZANETTI, D. Mineral release from different feeds, mineral balance for nellore young bulls, and prediction of water intake by beef cattle. 152 p. Tese Doutorado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil, 2017.

SUPLEMENTAÇÃO VITAMÍNICA PARA BOVINOS DE CORTE: BASES CIENTÍFICAS E BENEFÍCIOS PRODUTIVOS

Tiago Sabella Acedo¹, Vinícius Nunes de Gouvêa², Guilherme de Souza F. M. de Vasconcellos³

¹Zootecnista, DS, Gerente de Inovação e Ciência Aplicada para Ruminantes LATAM – DSM;

²Médico Veterinário, DS Supervisor de Inovação e Ciência Aplicada para Ruminantes LATAM – DSM;

³Médico Veterinário, Coordenador de Inovação e Ciência Aplicada para Ruminantes LATAM - DSM

Autores correspondentes: tiago.acedo@dsm.com; guilherme.vasconcelos@dsm.com

INTRODUÇÃO

No início do século 20, muita tecnologia europeia era comprada por países asiáticos para otimizar a produção de alimentos e suprir a demanda de sua crescente população. Uma das máquinas agrícolas importadas na época tinha a função de descascar o arroz de forma mais rápida e eficiente, uma vez que este grão era o principal ingrediente na alimentação local. Entretanto, o que os agricultores locais não sabiam é que este processo também eliminava alguns nutrientes vitais do arroz, fazendo com que problemas de saúde, como paralisias e fraqueza muscular, começassem a emergir em toda a população.

Esta deficiência nutricional ficou conhecida como beribéri, resultado de uma baixa ingestão da vitamina B1 (tiamina) pelo organismo. Foi assim que em 1912 o bioquímico polonês Casimir Funk, ao procurar uma cura para esta doença, identificou e isolou nos grãos de arroz uma substância composta principalmente por aminas, grupos orgânicos nitrogenados derivados da amônia. Acreditando ser uma amina vital para a saúde, Funk a denominou como **vitamina** (“vital amina”), sendo este o termo utilizado para definir esta nova classe de substâncias orgânicas. Desde então, os cientistas já foram capazes de identificar e sintetizar todas as 13 vitaminas existentes na natureza.

Assim, por definição, vitaminas são compostos orgânicos necessários em quantidades pequenas, essenciais para o desenvolvimento e funcionamento dos organismos humanos e

animais. Classicamente, as vitaminas são agrupadas em duas grandes categorias: lipossolúveis e hidrossolúveis.

As lipossolúveis são representadas pelas vitaminas A (retinol), D (calciferóis), E (tocoferóis) e K (filoquinona), possuem absorção por auxílio de sais biliares e são armazenadas em tecidos adiposos e fígado, permanecendo por mais tempo no organismo animal. Já as hidrossolúveis são representadas pelas vitaminas C e do complexo B (biotina, tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, piridoxina, ácido fólico e cobalamina), são absorvidas de forma simples e não são armazenadas no organismo (com exceção da vitamina cobalamina em ruminantes).

Como nos humanos, os bovinos também podem apresentar sinais clínicos decorrentes da ausência destas vitaminas em sua dieta, como por exemplo, raquitismo, retardo de crescimento, problemas de casco, função imune debilitada, distrofia muscular, mastite e baixa fertilidade. Outro ponto importante que impacta diretamente na lucratividade do produtor são as limitações em desempenho produtivo e reprodutivo observadas em animais deficientes nestes nutrientes, que passam a apresentar queda na produção e na qualidade da carne e leite.

As vitaminas são requeridas pelo metabolismo de bovinos de corte para manutenção do funcionamento normal das funções corporais e processos metabólicos vitais. Adicionalmente, quantidades adequadas de vitaminas são necessárias para permitir uma eficiente utilização de outros nutrientes. Vários processos metabólicos são iniciados ou controlados por vitaminas específicas ao longo da vida. Requerimentos dietéticos mínimos de vitaminas são necessários para prevenir o aparecimento de doenças metabólicas ou síndromes associadas à carência de vitaminas específicas e também para promover processos produtivos e desenvolvimento dos animais (NRBC 2016).

Cada vitamina possui uma função específica e apresenta importante papel para o organismo bovino (Tabela 1). Segundo Hernandez et al. (2013), as vitaminas representam menos de 1% dos custos totais de produção animal, porém, estão presentes em

praticamente 100% das funções metabólicas, o que traz à estes “micronutrientes” status de “macro importância”.

Tabela 1 - Principais funções das vitaminas lipossolúveis e hidrossolúveis em ruminantes

LIPOSSOLÚVEIS	
A	Crescimento, reprodução, manutenção de tecidos e desenvolvimento ósseo.
D	Absorção e metabolismo de cálcio e fósforo, mineralização óssea e função imune.
E	Função antioxidante.
K	Síntese de compostos relacionados com a coagulação sanguínea.
Betacaroteno	Precursor da vitamina A, função antioxidante, imune e reprodutiva.
HIDROSSOLÚVEIS	
Biotina	Saúde dos cascos, produção de leite, síntese de glicose e gorduras.
Tiamina (B1)	Coenzima para metabolismo de energia e carboidratos.
Riboflavina (B2)	Metabolismo intermediário de proteínas, gorduras e carboidratos.
Niacina (B3)	Metabolismo de aminoácidos, gorduras e carboidratos.
Ácido Pantotênico (B5)	Metabolismo de gorduras e aminoácidos.
Piridoxina (B6)	Metabolismo de aminoácidos.
Ácido Fólico (B9)	Metabolismo e síntese de aminoácidos e ácidos nucleicos.
Cobalamina (B12)	Metabolismo de aminoácidos, ácidos nucleicos, gorduras e carboidratos.
Ácido Ascórbico (C)	Função antioxidante e síntese de esteroides.

Fonte: adaptado de NRC (1996 e 2001) e Optimum Vitamin Nutrition (2012).

EXISTEM MUITOS ESTUDOS QUE AVALIARAM VITAMINAS PARA RUMINANTES?

Ao revisar a literatura, observa-se um número relativamente limitado de trabalhos conduzidos especificamente para avaliar o uso de vitaminas para ruminantes.

Até o presente momento, encontraram-se apenas dois artigos científicos publicados na literatura nacional nos últimos 27 anos, nos quais o objetivo foi estudar o efeito de vitamina. Estes estudos (Zanetti et al. 1998; Paschoal et al. 2003) estão publicados na Revista Brasileira de Zootecnia e foram conduzidos para avaliar a suplementação de vitamina E e selênio em vacas de leite, sobre parâmetros relativos a saúde da glândula mamárias e níveis séricos de selênio.

Já na literatura internacional, há disponível um maior número de artigos publicados sobre o efeito de vitaminas para ruminantes.

No *Journal of Dairy Science*, entre 1970 e janeiro de 2018 foram encontrados publicados um total de 259 artigos nos quais se estudaram os efeitos de vitaminas para gado de leite, conforme apresentado no Gráfico 1.

Gráfico 1 - Número de artigos publicados no *Journal of Dairy Science*, entre 1970 e janeiro de 2018, nos quais se estudaram os efeitos de vitaminas para gado de leite.

Estima-se que durante o período revisado, entre 1970 e janeiro de 2018, no *Journal of Dairy Science* foram publicados aproximadamente 43.200 artigos, com isso registra-se que apenas em 0,60% deste total (43.200:259) o foco de pesquisa foram vitaminas. Se avaliarmos as publicações anuais, temos 5,4 artigos sobre vitaminas por ano.

Entre os trabalhos publicados no *Journal of Dairy Science*, as principais vitaminas estudadas foram: vitamina E (67 artigos), vitamina D (41 artigos), vitamina A (28 artigos), vitamina B12 (24 artigos), vitaminas do complexo B (18 artigos), biotina (13 artigos), betacaroteno (11 artigos), 25H – 1,25 -hidroxicolecalciferol (6 artigos) – Gráfico 2. Os principais parâmetros estudados nos referidos trabalhos foram: produção de leite, saúde geral, imunidade, reprodução, saúde da glândula mamária, qualidade do leite (composição e estabilidade de derivados), associação com outros nutrientes (selênio e ácidos graxos) e saúde dos cascos.

Gráfico 2 - Vitaminas estudadas nos artigos publicados no *Journal of Dairy Science*, entre 1970 e janeiro de 2018, nos quais se estudaram os efeitos de vitaminas para gado de leite.

Ao revisar o *Journal of Animal Science*, entre 1933 e janeiro de 2018 foram encontrados um total de 69 artigos publicados nos quais se estudaram os efeitos de vitaminas para gado de corte, conforme apresentado no Gráfico 3.

Estima-se que durante o período revisado, entre 1933 e janeiro de 2018, no *Journal of Animal Science* foram publicados aproximadamente 43.200 artigos, com isso registra-se que apenas em 0,16% deste total (43.200:69) o foco de pesquisa foi vitamina. Se avaliarmos as publicações anuais, temos 0,86 artigos sobre vitaminas por ano.

Entre os trabalhos publicados no *Journal of Animal Science*, as vitaminas estudadas foram: vitamina A (26 artigos), vitamina E (19 artigos), vitamina D (18 artigos), vitaminas do complexo B (3 artigos), vitamina C (2 artigos) e vitaminas em geral (1 artigo) – Gráfico 4. Os principais parâmetros estudados nos referidos trabalhos foram: ganho de peso, rendimento de carcaça, qualidade de carne (maciez e composição), tempo de prateleira da carne, saúde geral, imunidade, associação com outros nutrientes (selênio e ácidos graxos) e saúde dos cascos.

Gráfico 3 - Número de artigos publicados no *Journal of Animal Science*, entre 1938 e janeiro de 2018, nos quais se estudaram os efeitos de vitaminas para gado de corte.

Gráfico 4 - Vitaminas estudadas nos artigos Journal of Animal Science, entre 1938 e janeiro de 2018, nos quais se estudaram os efeitos de vitaminas para gado de corte.

RECOMENDAÇÕES E EXIGÊNCIAS DE VITAMINAS

Atualmente para a produção de bovinos de corte no Brasil, as tabelas de recomendações e requerimentos nutricionais mais comumente utilizadas são aquelas apresentadas no NRC 2000, NRBC 2016, BR Corte 2010, BR Corte 2016 e “Optimum Vitamin Nutrition” (OVN® - DSM, 2012).

No que diz respeito às recomendações dietéticas para vitaminas, somente as publicações internacionais (NRC 2000, NRBC 2016 e OVN® - DSM, 2012) trazem os níveis de vitaminas recomendados na dieta dos animais.

Nas atualizações descritas pelo NRBC 2016 em relação à versão do NRC 2000, no tocante às vitaminas, houve alteração apenas nos níveis recomendados para a vitamina E no período de

adaptação em confinamento. Para as demais recomendações vitamínicas, não houve modificação. Deste modo, serão discutidos neste tópico alguns pontos em relação às recomendações descritas pelo NRBC 2016.

De maneira geral, observa-se que as recomendações de níveis vitamínicos dietéticos descritos no NRBC 2016 são baseadas, em grande parte, em experimentos antigos, que avaliaram basicamente de desaparecimento ou ausência de sintomas clínicos em resposta à suplementação vitamínica (Tabela 2).

Conforme apresentado na Tabela 2, para a vitamina A, o NRBC 2016 traz as mesmas recomendações já descritas no NRC 2000. Ao revisar a edição do NRC 2000, verifica-se que os trabalhos foram realizados entre as décadas de 30 e 70.

Por se tratarem de pesquisas realizadas há muitos anos, podem não retratar adequadamente as condições atuais dos sistemas de produção de bovinos de corte. A evolução em termos nutricionais (dietas), genética, sanidade, manejo, etc, faz com que os dados até então gerados não reflitam a realidade atual da pecuária de corte.

Sendo assim, é notória a necessidade de condução de experimentos nas condições atuais, para que sejam geradas recomendações de suplementação vitamínica com objetivo de maximizar o desempenho animal e não somente prevenir o aparecimento de sinais clínicos de carências vitamínicas.

Além da geração de dados nas condições atuais, faz-se necessária também um refinamento nas recomendações, uma vez os requerimentos sugeridos até o momento pelo NRBC 2016 são bastante generalistas, sendo estes divididos em sistema de produção (a pasto ou confinamento) e estado fisiológico dos animais (gestação, lactação e adulto – touros). Assim, uma maior precisão nas recomendações torna-se imprescindível para nutrição adequada em cada fase do ciclo de produção (bezerro, recria, matrizes, touros), sexo (machos, fêmeas e animais castrados), níveis de ganho de peso, diferentes dietas e condições ambientais (temperatura, lama, atividade, etc).

De acordo com o NRBC (2016), a vitamina C é sintetizada pelos ruminantes, não sendo necessária a sua suplementação via dieta. Da mesma forma, a habilidade dos microrganismos ruminais sintetizar as vitaminas hidrossolúveis e suprir o animal hospedeiro depois com sua passagem para o intestino delgado é conhecida há décadas. Os autores ressaltam ainda que, conseqüentemente, para as vitaminas hidrossolúveis ou não há necessidade de suplementação dietética para atingimento dos requerimentos dietéticos diários mínimos dos animais ou mesmo estes requerimentos ainda não foram estabelecidos pela ciência.

Assim, nota-se ao revisar a literatura que há necessidade de se gerar mais trabalhos experimentais para se definir a necessidade de suplementação e os níveis a serem utilizados para vitaminas de modo mais específico, tanto das hidro quanto das lipossolúveis.

Por outro lado, já é de consenso na comunidade científica a necessidade de suplementação das vitaminas lipossolúveis A, D e E. Entretanto, os níveis ótimos para assegurar bons índices de produtividade na atividade pecuária comercial atual, ainda são foco de discussão.

No intuito de trazer recomendações de níveis vitamínicos para animais de produção, objetivando otimizar a produtividade, saúde e qualidade dos produtos de origem animal, foi desenvolvido o “Optimum Vitamin Nutrition” (OVN® - DSM, 2012). Trata-se de um conceito de suplementação vitamínica baseado nas pesquisas científicas em que o desempenho foi maximizado a partir de níveis dietéticos de vitaminas mais adequados. Com isso, de maneira geral, os níveis recomendados pelo OVN®, estão acima dos descritos nas recomendações tradicionais, que foram estabelecidos apenas com base em desaparecimento de sinais clínicos ocasionados por deficiência de vitaminas na nutrição dos animais.

Sistemas de produção intensivos tem demandado uma crescente ênfase na importância de se suprir adequadamente vitaminas, de modo a atingir o requerimento dos animais. De

acordo com o NRBC 2016, o requerimento de vitaminas para animais em confinamento deve ser mais elevado, já que os altos níveis de produtividade observados nesse sistema (ganho de peso, conversão alimentar, rendimento de carcaça) elevam os requerimentos metabólicos. Não obstante, as operações de confinamento devem também permitir formulações mais precisas e oferecer aos animais dietas que atendem de maneira adequada as exigências nutricionais dos animais.

Tabela 2 - Recomendações de vitaminas para bovinos de corte NRC 2000 e NRBC 2016

Vitamina	Categoria animal				Referências ¹
	Adaptação confinamento, animais jovens sob estresse	Confinamento	Novilhas e vacas prenhas	Vacas em lactação e touros	
A		2200 UI/kg de MS	2800 UI/kg de MS	3900 UI/kg de MS	Guilbert and Hart, 1935 Jones et al., 1938 Guilbert et al., 1940 Madsen et al., 1948 Church et al., 1956 Chapman et al., 1964 Cullison and Ward, 1965 Perry et al., 1965, 1968 Swanson et al., 1968 Kohlmeier and Burroughs, 1970 Meacham et al., 1970 Kirk et al., 1971 Eaton et al., 1972
D		275 UI/kg de MS			NRC (1984) - trabalhos experimentais não referenciados
E	400 a 500 UI/dia ou 1,6 a 2,0 UI/kg de PV*	25 a 35 UI/kg de MS ou 0,52 a 0,73 UI/kg de PV**			*Galyean et al. 1999 **NRC 1996 - trabalhos experimentais não referenciados
K	Não há recomendação de suplementação, segundo NRC, 1996, 2000, 2001, 2007b, 2016; McDowell, 200; CSIRO, 2007 as exigências são atendidas pela dieta e síntese ruminal.				

(1) Referências citadas pelo NRC 2000 e NRBC 2016.

Tabela 3 - Recomendações de vitaminas para bovinos de corte “Optimum Vitamin Nutrition” (OVN® - DSM, 2012)

Categoria	Vit. A(5)	Vit. D3(3)	Vit. E	Vit. B1	Biotina	β-caroteno
	U.I.	U.I.	mg	mg	mg	mg
Bezerros (1)	20000-32000	1400-1800	100-150	2,5-5	0,05-0,10	100 (7)
Recría (2)	25000-50000	6000-9000	200-300	60-250 (5)	10-20 (6)	
Terminação (2)	40000-80000	5000-7000	500-2000 (4)	60-250 (5)	10-20 (6)	
Vacas (2)	40000-70000	5000-10000	300-500		20 (6)	300-500 (8)
Touros (2)	50000-80000	5000-10000	300-500		20 (6)	

Continuação.

Categoria	Vit. K3	Vit. B2	Vit. B6	Vit. B12	Niacina	Ácido pantotênico	Ácido Fólico	Vit. C	Colina
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
Bezerros (1)	1-1,5	2,5-4,5	2,5-4,5	0,04-0,08	9-18	7-9	0,2-0,3	250-500	500-750

(1) De 0 a 3 meses, quantidade adicionada por kg sucedâneo de leite; (2) Valor suplementar por animal por dia; (3) Limites legais locais devem ser observados; (4) Nível superior para melhorar coloração e tempo de prateleira 100 a 120 dias de pré-abate; (5) Nível superior para animais recebendo alta quantidade de concentrado; (6) Para ótima saúde do casco e melhor marmoreio da carne; (7) Duas semanas depois da colostragem; (8) 30 dias antes da 1ª inseminação ou acasalamento.

BENEFÍCIOS PRODUTIVOS COM A SUPLEMENTAÇÃO VITAMINA

Conforme destacado nos tópicos anteriores e apresentado no gráfico 2, a maioria dos trabalhos conduzidos para avaliar o efeito de suplementação vitamínica para bovinos de corte foram focados nas vitaminas classificadas como lipossolúveis, mais especificamente nas vitaminas A, D e E, e também nas vitaminas do complexo B, classificadas como hidrossolúveis.

Não obstante, tem sido verificado crescimento no interesse em outras vitaminas e outros precursores e/ou metabólitos de vitaminas. Entre estes novos focos de estudo, destaca-se a biotina, o betacaroteno (precursor da vitamina A) e também no o 1,25 - hidroxicolecalciferol, também conhecido como 1,25-dihidroxivitamina D3. Em bovinos de leite estas vitaminas e/ou precursores já estão em estágio avançado de estudo, sendo o conhecimento gerado considerado muito importante para nortear os trabalhos investigativos com relação aos efeitos da suplementação deste para bovinos de corte, bem como para servir de base para níveis suplementares para os animais destinados à produção de carne, uma vez que podemos assumir, em alguns casos, os trabalhos desenvolvidos com gado leiteiro como “modelo animal”.

Desta maneira, procurou-se ter como foco neste tópico reunir os principais trabalhos com gado de corte para as vitaminas A, D, E, Biotina, Betacaroteno e 1,25 - hidroxicolecalciferol.

VITAMINA E

De maneira geral, os principais focos de estudo em bovinos de corte com a suplementação dos animais com vitamina E estão relacionados com sua ação antioxidante, uma vez que esta vitamina é considerada o antioxidante mais efetivo da natureza. Assim, dentre os trabalhos encontrados na literatura, a maioria estudou o efeito da suplementação com vitamina E para animais estressados ou sob sistema de produção de alta performance

(confinamento, por exemplo), e/ou seus efeitos sobre a qualidade da carne produzida.

A vitamina E é sintetizada naturalmente pelas plantas e sua atividade é derivada principalmente de compostos conhecidos como tocoferóis. O α -tocoferol, o mais biologicamente ativo desses compostos, é a forma ativa predominante de vitamina E nos alimentos e a mais utilizada comercialmente para suplementação dietética dos animais (Scherf et al., 1996).

A concentração de vitamina E nos alimentos é bastante variável. Nas forragens, por exemplo, dependendo do estágio vegetativo ("idade" da planta) pode variar de 80 a 200 UI/kg de matéria seca (MS) – para a vitamina E, uma unidade internacional (UI) representa 1 mg de acetato de α -tocoferol. Além disso, a concentração de α -tocoferol reduz rapidamente após o corte da planta, ou seja, silagens conservadas e fenos utilizados nas dietas de ruminantes, geralmente apresentam de 20 a 80% menos tocoferol que a mesma planta "verde". De maneira geral, ingredientes concentrados como os grãos cereais (milho e sorgo) também apresentam concentrações muito baixas de vitamina E, podendo a suplementação dietética exógena trazer benefícios aos animais.

Arnold et al. (1992) avaliaram a concentração de α -tocoferol em diferentes tecidos de bovinos confinados que receberam suplementação de vitamina E. A suplementação dessa vitamina na dieta resultou na elevação da sua concentração em todos os tecidos analisados (Gráfico 5), que incluíram o sangue (plasma), músculo (contra-filé) e fígado, um dos locais onde essa vitamina é armazenada. Isso evidencia o fato de que fontes dietéticas exógenas de vitamina E são capazes de atingir os tecidos alvos e exercer suas importantes funções.

Gráfico 5 - Efeito da suplementação de vitamina E na concentração de α -tocoferol dos tecidos de bovinos terminados em confinamento.

Fonte: Adaptado de Arnold et al. (1996).

Controle: não suplementados. Vitamina E: 2000 UI/animal/dia.

ab - Letras diferentes significam diferenças estatísticas entre as médias ($P < 0,05$) na comparação dentro de cada tipo de tecido analisado.

Nesse mesmo estudo, Arnold et al. (1992) também avaliaram as características da carne dos animais (contra-filé) suplementados com vitamina E. Dentre as variáveis analisadas, a coloração da carne durante o período de armazenamento recebeu grande atenção. Os autores observaram que a carne dos animais suplementados com vitamina E na dieta apresentaram uma melhor coloração durante os 8 dias de avaliação em que foram mantidas nos painéis de refrigeração (que nós conhecemos como as “gondolas” dos supermercados, onde as carnes são armazenadas nas bandejas de isopor revestidas com papel filme).

As carnes dos animais suplementados com vitamina E se mantiveram por mais tempo com a coloração avermelhada

característica de carne fresca (vermelho cereja - Gráfico 6), enquanto a carne dos animais não suplementados (grupo controle) apresentou coloração vermelho escuro, característico de carnes que entram em processo de deterioração. Esse fato está relacionado com o grande efeito antioxidante da vitamina E, que reduz a oxidação dos lipídios e proteínas que compõe a carne, garantindo assim que suas características físicas sejam preservadas por mais tempo.

Gráfico 6 - Efeito da suplementação de vitamina E na coloração da carne de bovinos confinados.

Fonte: Adaptado de Arnold et al. (1992).

Coloração: 3 = moderadamente vermelho cereja / 4 = vermelho cereja / 5 = moderadamente vermelho escuro / 6 = vermelho escuro.

Controle: não suplementados. Vitamina E: 2000 UI/animal/dia.

Diferentes doses de vitamina E na dieta dos animais (0, 250, 500 ou 2000 mg/animal/dia) e seus efeitos na qualidade da carne de bovinos confinados também foram estudadas por Liu et al. (1996). De acordo com os resultados obtidos por esses autores, o aumento da

dose de vitamina E na dieta dos animais durante o período de confinamento proporciona um aumento na vida de prateleira da carne (Gráfico 7). Novamente, o efeito antioxidante dessa vitamina se mostrou capaz de trazer benefícios para a qualidade do produto final.

De maneira geral, o efeito positivo da suplementação de vitamina E no aumento da vida de prateleira da carne está relacionado com a redução na oxidação da mioglobina e com a formação da metamioglobina, responsável por conferir a coloração marrom/vermelho escuro à carne, além da redução na oxidação dos lipídios presentes na carne.

Gráfico 7 - Efeito da suplementação de vitamina E na vida de prateleira da carne bovina.

Fonte: Adaptado de Liu et al. (1996).

ab - Letras diferentes significam diferenças estatísticas entre as médias ($P < 0,05$).

Além de todos os benefícios apresentados em relação à qualidade da carne, a suplementação de vitamina E na dieta de ruminantes já mostrou que mais ganho de peso também pode ser obtido devido a sua utilização.

Secrist et al. (1997) realizaram uma extensa revisão de literatura sobre os efeitos da suplementação de vitamina E na dieta de bovinos confinados e seus efeitos no desempenho e saúde geral dos animais. Nessa revisão foram analisados em conjunto, os resultados obtidos em 21 pesquisas diferentes. Os autores

concluíram que de maneira geral (média de todos os estudos – 841 UI/animal/d) a suplementação de vitamina E na dieta de bovinos confinados aumenta o ganho de peso diário (GMD) e o peso final dos animais (PF), conforme apresentado no Gráfico 8 e nas Tabela 4 e 5.

Gráfico 8 - Efeito da suplementação com vitamina E no ganho de peso diário e peso final de bovinos confinados.

Fonte: Adaptado de Secrist et al. (1997).

Controle: não suplementados. Vitamina E: 841 UI/animal/dia.

ab - Letras diferentes significam diferenças estatísticas entre as médias ($P < 0,05$).

Ainda nesta mesma revisão, Secrist et al. (1997) puderam isolar os efeitos da suplementação de vitamina E para bovinos recém-chegados no confinamento, que passaram pelo estresse do transporte (Tabela 6). De acordo com os autores, a suplementação de vitamina E para animais durante o início do confinamento, período de grande estresse principalmente devido ao transporte e formação dos lotes, tende a melhorar a eficiência alimentar dos animais. Segundo os autores, a suplementação de vitamina E aumenta a resposta imune e, com isso, a capacidade do organismo animal em se defender de doenças e patógenos, além de outros distúrbios que podem comprometer o desempenho durante o período de confinamento.

Tabela 4 - Efeito de suplementação com vitamina E no desempenho de bovinos em confinamento

Citação	Nº trat	Dieta ^a	Dias de conf. ^e	Vitamina E	Peso inicial	GMD ^c	GMD	CMS ^d	CMS	CMS: GMD	CMS: GMD	Vit E ^b	Vit E ^b
				IU/dia								kg	kg
Meiske et al. 1971	28	62	238	500	214	1,12	1,11	8,21	8,14	7,33	7,35		
Davis 1982	22	26	110	74	288	0,75	0,77	6,23	6,45	8,35	8,36		
Carrica et al. 1986	27	88 2/3 HMC	121	200	366	1,43	1,45	9,07	9,02	6,29	6,21		
Carrica et al. 1986	27	88 2/3 HMC	121	200	366	1,32	1,26	8,06	8,52	6,10	6,76		
George et al. 1986	18	90	127	358	—	1,29	1,35	9,90	10,85	7,40	7,70		
Hill 1987	48	85	130	223	366	1,51	1,52	10,09	10,13	6,70	6,67		
Hill 1987	21	85	84	610	365	1,67	1,81	11,00	11,10	6,60	6,20		
Hill 1987	21	85	84	1221	365	1,67	1,87	11,00	11,10	6,60	5,90		
Hill et al. 1989	30	85	133	971	335	1,46	1,52	10,50	10,20	7,25	6,76		
Hill et al. 1989	18	85	133	1142	352	1,73	1,88	11,70	12,00	7,31	6,84		
Pehrson et al. 1991	19		298	466	54	1,14	1,22						
Arnold et al. 1992	54	90 HMC	266	300	110	1,40	1,40	6,60	6,60	4,55	4,55		
Arnold et al. 1992	4	90 HMC	67	2000	386	1,40	1,40	8,10	8,00	5,88	5,56		
Arnold et al. 1992	5	90 HMC	38	2000	620	1,20	1,40	8,10	7,80	6,67	5,88		
Hill et al. 1992	18	85	126	1000	353	1,54	1,67	11,57	11,39	6,70	6,40		
Hill et al. 1992	18	85	126	500	362	1,72	1,75	10,98	10,93	6,40	6,30		
Hill et al. 1992	18	85	126	1000	361	1,72	1,76	10,98	11,16	6,40	6,30		
Arnold et al. 1993	12	90 HMC	220	2000	250	1,33	1,22	7,58	6,97	5,70	5,71		
Hill et al. 1995	21	85	133	1350	367	1,61	1,61	11,70	11,84	6,80	6,90		
Hill et al. 1995	18	85	105	1350	392	1,93	2,12*	10,30	11,39	5,40	5,20*		
Secrist et al. 1995	48	92 HMC	145	200	272	1,86	1,90	7,90	7,99	4,27	4,17		
Média ponderada						1,38	1,42*	8,93	8,99	6,53	6,41†		
Nível de significância (P<)							0,02		0,31		0,08		

Fonte: Adaptado de Secrist et al. (1997).

^a Percentual de concentrado na dieta, HMC – silagem de grão úmido de milho; ^b Tratamento com suplementação de vitamina E; ^c Ganho médio diário; ^d Consumo de matéria seca; ^e Dias de confinamento; * Diferença estatística com relação ao tratamento controle (P<0,05); † Diferença estatística com relação ao tratamento controle (P<0,10).

Tabela 5 - Efeito de suplementação com vitamina E em medidas de qualidade de carcaça de bovinos em confinamento

	Dias de conf. ^e	Vitamina E	Peso Final	Peso Final	AO ^a	AO	EG	EG	M ^c	M	RC ^d	RC
		IU/dia	kg	Vit E ^b	cm ²	Vit E ^b	cm	Vit E ^b	Vit E ^b	Vit E ^b		Vit E ^b
Meiske et al. 1971	238	500	481	478	74,2	72,9	1,52	1,73	13,1	13,1	3,40	3,70
Carrica et al. 1986	121	200	539	541					12,1	11,9	2,90	2,96
Carrica et al. 1986	121	200	526	518					12,0	12,6	2,77	2,96
George et al. 1986	127	358			72,3	72,3	1,04	1,12	18,4	18,7	2,60	2,80
Hill 1987	130	223	563	563					13,1	13,2	2,80	2,90
Hill 1987	84	605	505	517					12,2	12,1	2,53	2,36
Hill 1987	84	1221	505	522					12,2	11,9	2,53	2,28
Hill et al. 1989	133	971	529	536					12,2	12,3		
Hill et al. 1989	126	1142	570	588					12,2	12,3		
Arnold et al. 1992	266	300	499	499	70,5	70,3	0,52	0,54	13,3	13,2	2,60	2,60
Arnold et al. 1992	67	2000	486	487	86,5	80,0	1,08	0,73	11,5	10,8	2,20	2,10
Arnold et al. 1992	38	2000	657	648	87,6	82,6	0,46	0,58	13,6	13,6	2,50	2,70
Hill et al. 1992	126	1000	546	562					12,2	12,3	3,60	3,50
Hill et al. 1992	126	500	578	583					11,6	11,3	3,30	3,20
Hill et al. 1992	126	1000	578	583					11,6	11,7	3,30	3,20
Arnold et al. 1993	220	2000	538	521	69,0	70,1	1,10	0,90	12,8	13,6	3,20	2,90
Secrist et al. 1995	145	200	523	532	102,6	101,3	1,02	1,14†	11,8	12,6†	1,31	1,49
Média ponderada			538	543†	79,9	79,0	0,93	1,00	12,67	12,80	2,75	2,79
Nível de significância (P<)				0,06		0,17		0,23		0,14		0,36

Fonte: Adaptado de Secrist et al. (1997). ^a Área de olho de lombo; ^b Tratamento com suplementação de vitamina E; ^c Maturidade e marmoreio ("Quality grade") – Alto = 12; Baixo = 13; ^d Rendimento de cortes ("Yield grade"); ^e dias de confinamento; * Diferença estatística com relação ao tratamento controle (P<0,05); † Diferença estatística com relação ao tratamento controle (P<0,10).

Tabela 6 - Impacto da vitamina E suplementar na saúde e no desempenho de bezerros estressados por transporte

Citação	Nºtrat	Sexo	Dieta ^a	Vitamina E	Peso inicial	GMD	CMS	CMS:GMD	Morbidade				
				IU/dia	-----kg-----	Vit E ^b	Vit E ^b	Vit E ^b	Vit E ^b				
						-----kg:kg-----	-----	-----	-----				
Lee et al. 1985	73	MC	74	450	250	1,18	1,25†	7,47	7,37	6,33	5,90	46,3	42,5
Gill et al, 1986	252	MC e MNC	10	1400	242	0,43	0,53*	7,98	7,98	20,41	15,87	43,3	37,5
Brandt and Elliot 1987	92	MC	55	400-800	–	–	NS	–	NS	–	NS	–	NS
Hays et al, 1987	66	MC e MNC	11	700	242	0,74	1,03	6,92	7,18	9,09	6,67	78,1	61,4
May et al, 1987	24	MC	–	1000	274	–	NS	–	NS	–	NS	–	NS
Média ponderada						0,80	0,92	7,48	7,49	12,42	9,00	55,1	47,9
Nível de significância (P<)						0,14	0,86					0,10	

Fonte: Adaptado de Secrist et al. (1997). ^a Percentual de concentrado na dieta; ^b Tratamento com suplementação de vitamina E; *Diferença estatística com relação ao tratamento controle (P<0,05); † Diferença estatística com relação ao tratamento controle (P<0,10); **MC – Machos castrados, MNC – Machos não castrados.

A suplementação com vitamina E frequentemente aumenta a saúde de animais estressados por transporte e consistentemente aumentam o ganho de peso dos animais em confinamento (Secrist et al. 1997). De acordo com os autores, estes resultados sugerem que o status de vitamina E em animais em confinamento, frequentemente, estão em níveis sub ótimos. Sendo assim, o desempenho dos animais pode ser prejudicado caso as dietas não sejam formuladas com níveis adequados de vitamina E. Além de maior qualidade de carne, representada por melhor coloração e maior tempo de prateleira, o incremento no desempenho animal (GMD e eficiência alimentar) por si só podem justificar níveis suplementares acima de 500 UI/animal/dia.

Vitamina D

A vitamina D, também conhecida como vitamina antirraquítica, está envolvida primariamente na regulação do metabolismo de cálcio e na manutenção de níveis adequados desse mineral no sangue dos animais. Atua também na mineralização e mobilização de cálcio dos ossos, além de estar envolvida com processos relacionados com a função imune (Reinhardt e Hustmyer, 1987). Essa vitamina pode ser obtida a partir da conversão de esteroides através da radiação ultravioleta do sol. Inclui tanto a vitamina D₂ (ergocalciferol) quanto à vitamina D₃ (colecalfiferol). A vitamina D₂ é sintetizada a partir do esteroide ergosterol (que está presente nos vegetais, fungos e leveduras) através da radiação ultravioleta. A produção de vitamina D₃ na pele dos animais ocorre principalmente através da foto-conversão do 7-deidrocolesterol (que é produzido no organismo animal a partir do metabolismo do colesterol e excretado pelas glândulas sebáceas) em colecalfiferol.

A quantidade de Vitamina D₃ que é sintetizada pelos animais depende da frequência e intensidade dos raios ultravioletas que alcançam os animais. As duas formas (D₂ e D₃) apresentam atividade biológica semelhantes nos ruminantes (1g equivale a 40.000 UI). Para se tornarem completamente funcionais e

exercerem suas atividades biológicas essas vitaminas necessitam ser ativadas. Esse processo de ativação se inicia no fígado, onde elas são convertidas em 25-hidroxicolecalciferol e é concluído nos rins, onde elas são finalmente convertidas em 1,25-dihidroxicolecalciferol, consideradas a forma hormonal da vitamina D (Figura 1), cerca de cinco vezes mais ativa que a forma de 25-hidroxicolecalciferol (Horst e Reinhardt, 1983). A forma 1,25-dihidroxicolecalciferol é então transportada para a mucosa intestinal, ossos e túbulos renais, onde atuará principalmente nos processos de regulação do metabolismo de cálcio e fósforo (Casals e Calsamiglia, 2012).

O grande foco de estudo da suplementação de vitamina D na dieta de bovinos de corte está relacionado com o aumento da maciez da carne produzida. Swanek et al. (1999) realizaram três experimentos para avaliar os efeitos da suplementação de vitamina D₃ na dieta de bovinos confinados sobre as características da carne e metabolismo de cálcio. A dieta basal utilizada nos experimentos apresentava 2,5% de feno de alfafa como volume e 87,5% de concentrado (80,6% de milho grão inteiro, 8,5% caroço de algodão, 5,5% farelo de soja e 5,4% de núcleo mineral). Os animais utilizados eram machos castrados, cruzados, e de origem genética predominantemente europeia. No experimento 01, foram avaliados três níveis de suplementação de vitamina D₃ na dieta: 2,5; 5,0 e 7,5 × 10⁶ UI de vitamina D₃ por dia durante 10 dias de suplementação, além do tratamento controle (sem suplementação adicional de Vit. D₃). A coleta de sangue foi realizada durante os 10 dias de suplementação e por mais 5 dias após o término do fornecimento da vitamina na dieta. A suplementação de vitamina D₃ aumentou linearmente (P = 0,04) a concentração plasmática de cálcio ionizado a partir do 6º dia de fornecimento. Os animais suplementados com 7,5 × 10⁶ UI de vitamina D₃ por dia apresentaram níveis plasmáticos de cálcio entre 40% e 50% mais elevados que os animais não suplementados. No experimento 02, foram avaliados dois tratamentos: controle (sem suplementação adicional de vit. D₃) e suplementado (suplementação de 5 × 10⁶ UI

de vitamina D₃ por dia durante os últimos 7 dias antes do abate). De acordo com os autores a suplementação de vitamina D₃ elevou novamente a concentração de cálcio no plasma (9,23 mg/dL vs. 12,39 mg/dL; P = 0,03; respectivamente para os grupos controle e suplementado), reduziu a força de cisalhamento avaliada após 7 dias de maturação (4,70 vs. 4,12 kg; P = 0,01; respectivamente para os grupos controle e suplementado) e aumentou a maciez¹ da carne (4,77 vs. 5,53; P = 0,02; respectivamente para os grupos controle e suplementado). No experimento 03, foram avaliados dois tratamentos: controle (sem suplementação adicional de vit. D₃) e suplementado (suplementação de $7,5 \times 10^6$ UI de vitamina D₃ por dia durante os últimos 10 dias antes do abate). Novamente a suplementação de vitamina D₃ elevou a concentração de cálcio no plasma (14,2 vs. 21,3; P = 0,02; respectivamente para os grupos controle e suplementado), reduziu a força de cisalhamento avaliada após 7 dias de maturação (5,13 vs. 4,21 kg; P = 0,02) e 14 dias de maturação (4,40 vs. 3,81; P = 0,07; respectivamente para os grupos controle e suplementado) além de aumentar a atividades das μ -calpaínas (0,56 vs. 0,19; P = 0,05) e das calpastatinas (4,83 vs. 4,11; P = 0,04; respectivamente para os grupos controle e suplementado) avaliadas 24 horas post-mortem. De acordo com os autores a elevação na concentração de cálcio no músculo favorece a ativação das calpaínas e o consequentemente aumento da maciez da carne através da maximização da atividade proteolítica *post-mortem*.

Montgomery et al. (2000) também avaliaram os efeitos da suplementação de vit. D₃ na dieta de bovinos confinados sobre as características da carne. Animais cruzados, machos, castrados e de genética europeia foram utilizados na pesquisa. Os tratamentos avaliados foram: controle (sem suplementação adicional de Vit. D₃ na dieta), 5×10^6 UI de vitamina D₃ ou $7,5 \times 10^6$ UI por dia de vitamina D₃ durante os 9 dias finais de confinamento. A suplementação de vitamina D₃ na dieta aumentou (P < 0,05) a

¹Avaliado através de painel sensorial: 8 = carne extremamente macia e succulenta e 1 = extremamente resistente/dura e seca.

concentração de vit. D₃ e de 25-hidroxivitamina D₃ em todos os tecidos avaliados - plasma, fígado, rim e músculo – sem diferença entre as doses avaliadas. A maciez objetiva da carne avaliada com 14 dias de maturação foi maior nos animais suplementados com vit. D₃ (3,25 kg vs. 2,79 kg; P = 0,0015; respectivamente para os grupos controle e suplementado – média dos tratamentos 5 e 7 × 10⁶) assim como a proteólise muscular (0,614 vs. 0,889 da banda 30-kDa; P < 0,05; respectivamente para os grupos controle e 5 × 10⁶ UI vit. D₃). De acordo com os autores a suplementação de 5 × 10⁶ UI vitamina D₃ pode ser utilizada nos confinamentos para aumentar a maciez da carne.

25-Hidroxivitamina D3

A forma de 25-hidroxivitamina D₃ (25-OH D₃) se tornou comercialmente disponível para o uso na alimentação animal no final da década de 1990, sendo comercializada através do nome comercial HyD[®] (Celi et al., 2018). A suplementação de 25-hidroxivitamina D₃ na dieta de bovinos de corte e seus efeitos sobre as características da carne também já foi avaliada. Foote et al. (2004) e Wertz et al. (2004) indicaram que a suplementação dietética de 25-OH D₃ apresenta bom potencial para alterar as condições físico-químicas dentro do músculo que permitem uma maior proteólise *post-mortem* e aumenta a maciez da carne. De acordo com Celi et al. (2018) nenhum efeito adverso da suplementação com 25-OH D₃ até a dose de 8,5µg/kg de peso corporal (equivalente em média a 36.000 UI vit. D₃/animal/dia) foi observado em bezerros holandeses confinados. Características como temperatura retal, frequência cardíaca, frequência respiratória, perfil hematológico e bioquímica plasmática, uranálise e peso dos órgãos após o abate dos animais foram avaliadas. A suplementação de 25-OH D₃ elevou significativamente os níveis plasmáticos de 25-OH D₃, 1,25 OH-D₃ e vitamina D₃.

Carnagey et al. (2008) avaliaram os efeitos da suplementação de 2 níveis de 25-OH D₃ (250 ou 500 mg/animal) administrados oralmente e de uma única vez 7 dias antes do abate

dos animais. A suplementação de 25-OH D₃ elevou ($P < 0,05$) sua concentração plasmática de aproximadamente 75 ng/ml (grupo controle, sem suplementação de 25-OH D₃) para aproximadamente 200 ng/ml (média dos tratamentos 250 e 500 mg 25 OH D₃). A suplementação de 25-OH D₃ também elevou a concentração plasmática de cálcio (9,53 vs. 11,43 mg/dL; $P > 0,05$; respectivamente para os grupos controle e suplementado – média dos tratamentos 250 e 500 mg 25 OH D₃) e elevou ($P < 0,05$) a degradação da troponina em alguns músculos avaliados. Os autores concluíram que a suplementação de 25-OH D₃ altera características musculares envolvidas com a maciez da carne.

Em um estudo recente, Arrigoni et al. (2017, dados não publicados) observaram um aumento no rendimento de carcaça ($P = 0,06$) e uma tendência ($P = 0,10$) no aumento na expressão de genes relacionados com a síntese muscular (IGF2 e mTOR) em bovinos Nelore confinados e suplementados com 1 mg HyD[®]/animal/dia durante 90 dias. A suplementação com HyD[®] também elevou a concentração plasmática de 25-OH D₃ ($P < 0,001$) e os teores de cálcio total no sangue ($P = 0,048$), além da proporção de músculo na carcaça ($P < 0,001$) analisado através da seção HH nesse mesmo estudo. Esses dados estão de acordo com estudos que avaliaram a suplementação de 25-OH D₃ em dietas de leitões e observaram alterações significativas no peso corporal, rendimento de carcaça e número de fibras musculares (Coffey et al., 2012 e Hines et al., 2013) e com estudos avaliando a suplementação de 25-OH D₃ na dieta de frangos de corte (Vignale et al., 2015). Além disso, estudos *in vitro* também já demonstraram que a 1,25 (OH)₂ D₃ estimula a síntese proteica através do aumento da expressão de genes específicos (Salles et al., 2013).

Vitamina A

A vitamina A, também conhecida como retinol, possui grande importância para a saúde e desenvolvimento dos ruminantes. Quando fornecida em quantidades adequadas, promove o crescimento corporal e desenvolvimento ósseo, auxilia a manutenção de mucosas e tecidos, aprimora o sistema imune para o combate de doenças e traz benefícios para a fertilidade. A vitamina A é um composto lipossolúvel, absorvido no intestino delgado e armazenada no fígado. Na natureza, o retinol não está presente em plantas e tampouco é sintetizado pela microflora ruminal, entretanto, os seus precursores carotenoides podem ser encontrados nas forrageiras tropicais verdes.

Os carotenoides com maior eficiência de conversão em vitamina A são o alfacaroteno, o betacaroteno e gamacaroteno, convertidos com maior intensidade na parede do intestino delgado e no fígado, útero e ovários. Alguns fatores podem prejudicar a disponibilidade de carotenoides nas plantas, sendo os principais deles a qualidade e o processo de conservação das forragens. A ingestão de carotenoides pelos ruminantes diminui nas épocas secas do ano, uma vez que o valor nutricional das plantas é mais baixo, além de encontrarmos menor disponibilidade de forrageiras neste período. Ainda, a concentração de carotenoides tende a diminuir de acordo com o estágio de maturação da planta e após exposição por longos períodos de tempo a fatores ambientais, como luminosidade e umidade.

Perdas significativas também podem ocorrer ao submeter a planta a cortes ou processos de conservação, como a ensilagem, dado que as presenças de oxigênio e enzimas (lipoxidases) podem degradar estes componentes. Por fim, o tipo de dieta fornecida aos animais também influencia na disponibilidade de retinol para os bovinos. Uma publicação de McDowell (2000) reportou que a degradação ruminal da vitamina A chega a 67% nos animais recebendo dietas ricas em concentrado, contra apenas 18% em dietas a base de volumoso. Todos estes fatores corroboram para a

necessidade de suplementação da vitamina A em animais ruminantes.

Apesar da literatura limitada sobre os efeitos da vitamina A em bovinos de corte, alguns estudos comprovam a utilização deste composto no desempenho dos animais. Em um estudo japonês, Oka et al. (1998) avaliaram o efeito da vitamina A no desempenho de bovinos de corte da raça Wagyu. Em um dos experimentos publicados, um grupo de bovinos (23 meses de idade; PV $472,5 \pm 8,1$ kg) recebeu um de dois tratamentos: 1) controle: sem aplicação intramuscular de vitamina A; e 2) tratado: cinco aplicações intramusculares contendo 303 mg de retinol (aproximadamente 550.000 UI/aplicação), uma a cada dois meses. O grupo tratado apresentou um incremento de 170 gramas no ganho médio diário (0,630 vs. 0,460 kg/dia; $P < 0,05$), além de 55,5 kg a mais de ganho de peso final (658,0 vs. 602,5 kg; $P < 0,05$), comparado ao grupo que não recebeu a aplicação (Gráfico 9). Neste grupo, a suplementação foi realizada por 10 meses, tendo o abate ocorrido aos 33 meses de idade.

Gráfico 9 - Efeito da aplicação intramuscular de vitamina A sobre o peso final (kg) e o ganho médio diário (kg) em bovinos da raça Wagyu de 23 meses.

Fonte: adaptado de Oka et al., 1998.

Os autores repetiram as avaliações de desempenho em um segundo experimento, mas desta vez utilizando animais mais velhos e de maior peso (25 meses de idade; $489,8 \pm 19,9$ kg), tendo o grupo tratado recebido apenas 3 aplicações da vitamina, uma a cada dois meses. Assim, o período de avaliação neste grupo foi menor, de 6 meses, com abate ocorrendo aos 31 meses de idade. O grupo que recebeu a suplementação apresentou um incremento no ganho médio diário de 120 gramas (0,470 vs. 0,350 kg/dia; $p < 0,05$), além de 44,5 kg a mais de peso vivo final (602,0 vs. 557,5 kg; $P < 0,05$), comparado ao grupo que não recebeu a aplicação.

Em outro estudo publicado por Gorocica-Buenfil et al. (2007), avaliou-se a suplementação de vitamina A para bovinos cruzados em confinamento. Os tratamentos foram: 1) controle: sem suplementação de vitamina A; e 2) tratado: suplementação diária com 2.700 UI de vitamina A/kg de MS da dieta. O período de fornecimento das dietas foi dividido em duas fases: inicial (de 0 a 84 dias) e terminação (de 85 a 168 dias). A suplementação com vitamina A aumentou linearmente os níveis séricos de retinol atingindo, ao término do período de confinamento, 41,1 $\mu\text{g/dL}$ nos animais tratados e 23,1 $\mu\text{g/dL}$ nos bovinos não suplementados ($P < 0,01$). Novamente foram encontrados efeitos positivos da vitamina A no desempenho dos animais, sendo que o grupo tratado tendeu a apresentar um maior ganho médio diário (1,689 vs. 1,640 kg/dia; $P = 0,08$) e maior peso vivo final (583 vs. 574 kg; $P = 0,08$) comparado ao grupo controle. Além disso, os animais que receberam vitamina A tenderam a apresentar maior eficiência alimentar na fase de terminação do confinamento (219,4 vs. 212,2 g/kg; $P = 0,10$). Estes resultados comprovam os efeitos positivos da vitamina A e viabilizam a sua utilização para um maior incremento no desempenho de bovinos de corte.

Betacaroteno

Apesar de não ser classificado como vitamina, o betacaroteno é o principal carotenoide precursor da vitamina A, possuindo também importante função reprodutiva, imune e antioxidante. Nos bovinos,

1 mg de betacaroteno equivale a 400 UI de vitamina A (ou 120 µg de retinol) e sua disponibilidade na planta pode ser prejudicada por diversos fatores, conforme descrito anteriormente.

As pesquisas avaliando o betacaroteno em bovinos de corte estão em estágio inicial, mas já mostram resultados promissores para aprimoramento da fertilidade em vacas de corte criadas em pasto. Em estudo recente publicado por Colli et al. (2017), vacas que receberam suplementação mineral acrescida de vitaminas nas quantidades diárias de 70.000 UI de vitaminas A, 10.000 UI de vitamina D, 500 mg de vitamina E, 20 mg de biotina e 500 mg de betacaroteno durante a estação reprodutiva apresentaram taxa de concepção 15,6% maior após a 1ª inseminação artificial em tempo fixo (IATF), quando comparadas a vacas que receberam a suplemento mineral sem vitaminas (66,6% vs. 57,6%, respectivamente; $P = 0,04$; Gráfico 10). Este resultado comprova que a utilização das vitaminas e betacaroteno atua em sinergia, promovendo uma maior taxa de prenhez no momento inicial da estação de monta e, conseqüentemente, um maior número de nascimentos de bezerros ao início da estação de parição no ano seguinte. Com impactos positivos para as fazendas de cria, a maior quantidade de bezerros nascidos “no cedo” trará machos mais pesados no momento da desmama e fêmeas aptas a reproduzirem mais rapidamente, possibilitando uma diminuição no ciclo produtivo da bovinocultura de corte.

Gráfico 10 - Efeitos de vitaminas e betacaroteno na fertilidade de vacas Nelore em pastagens.

Fonte: adaptado de Colli et al., 2017.

Assim como nas vacas de corte, os estudos em bovinos de leite também comprovam que betacaroteno está correlacionado com o aumento de fertilidade. Madureira et al. (2016) realizaram uma mensuração de betacaroteno sérico em vacas Holandesas que não receberam suplementação de betacaroteno e verificaram sua relação com os resultados de prenhez e mortalidade embrionária. Vacas que apresentaram níveis altos ($> 4,82 \mu\text{g/mL}$) ou intermediários ($3,21 - 4,82 \mu\text{g/mL}$) de betacaroteno sério no momento da IATF apresentaram maior taxa de prenhez por inseminação artificial ao primeiro (DG1; $P \leq 0,05$) e segundo diagnósticos (DG2; $P \leq 0,05$) e menor mortalidade embrionária (ME; $P \leq 0,05$) comparadas às vacas com níveis de betacaroteno sérico baixo ($< 3,21 \mu\text{g/mL}$; Gráfico 11).

Gráfico 11 - Efeito da concentração sérica de betacaroteno sobre os parâmetros reprodutivos de vacas Holandesas em lactação.

Fonte: adaptado de Madureira et al. (2016).

ab - Letras diferentes significam diferenças estatísticas entre as médias ($P < 0,05$).

O betacaroteno também possui efeitos positivos na saúde uterina de vacas. Oliveira et al. (2015) dividiram um grupo de 283 vacas Holandesas em período pré-parto para receber um de dois tratamentos: controle (sem suplementação) e tratado (suplementação de 1,2 g de betacaroteno/dia) por no mínimo 14 dias antes do parto. Neste estudo, todos os animais receberam a mesma dieta durante o pré-parto, sendo que o grupo tratado recebeu o carotenoide *on top* uma vez ao dia. Como resultados, o betacaroteno reduziu a proporção de vacas multíparas que apresentavam retenção de placenta até 12 horas após o parto, de 29,9% para o grupo controle vs. 21,7% para o grupo tratado ($P \leq 0,05$). Além disso, o tempo de liberação da placenta nas vacas multíparas também foi reduzido, caindo de 490 minutos em média para 392 minutos nas vacas suplementadas ($P \leq 0,05$). Estes resultados demonstram o grande potencial do betacaroteno em

melhorar a saúde uterina das vacas, uma vez que a retenção de anexos embrionários pode causar infecções uterinas mais graves e, assim, aumentar o período de serviço e o intervalo de partos da propriedade.

Biotina

A biotina, também conhecida como vitamina B8, é uma vitamina hidrossolúvel que atua como cofator de enzimas que catalisam várias reações de carboxilação além de ser um dos intermediários no ciclo de Krebs (Casals e Calsamiglia, 2012). É encontrado em pequenas quantidades (forma livre) em todos os tecidos vegetais. Uma de suas principais funções está relacionada com o controle e produção de queratina e diferenciação de células epiteliais. Também está envolvida na gluconeogênese, no metabolismo do propionato, deaminação de aminoácidos e síntese de ácidos graxos essenciais, principalmente os AG insaturados de cadeia longa.

Em bovinos leiteiros o aumento na produção de leite e no teor de proteína do leite já foi relatado em várias pesquisas, sendo atribuídos principalmente à elevação do CMS decorrente de uma maior saúde do casco, facilitando sua locomoção, e também do aumento na produção de glicose devido à maximização da degradação da fração fibrosa da dieta (McDowell, 2001; Zimmerly e Weiss, 2001).

Em bovinos de corte o foco das pesquisas envolvendo a suplementação de biotina está ligado principalmente à saúde dos cascos. Campbell et al. (2000) realizaram um estudo clínico utilizando 157 vacas de corte (Hereford) mantidas em pastagens nativas do Canadá. Foi avaliada a inclusão ou não (grupo controle) de biotina no suplemento mineral dos animais (10 mg/cab/d). Os autores avaliaram a saúde do casco desses animais em intervalos periódicos durante 18 meses consecutivos. Amostras de sangue também foram coletadas para avaliação do nível da biotina no sangue dos animais. A suplementação de biotina elevou os níveis plasmáticos dessa vitamina já na primeira avaliação realizada (0,47 vs. 2.99 ng/ml;

$P < 0,001$; respectivamente para os grupos controle e suplementado) e assim se manteve até o final dos 18 meses de avaliação (0,71 vs. 2,33 ng/ml; $P < 0,001$). A suplementação de biotina reduziu significativamente a prevalência de fissuras verticais no casco dos animais. Na média, ao final de 18 meses de suplementação, apenas 15% dos animais suplementados com biotina apresentaram lesões de casco enquanto 33% das vacas não suplementadas apresentaram o problema ($P = 0,001$).

As bactérias ruminais são capazes de sintetizar quantidades significativas de biotina dependendo do substrato e da disponibilidade de energia no rúmen (Briggs et al., 1964). O aumento da quantidade de concentrado na dieta, entretanto, reduz a síntese ruminal de biotina conforme estudo realizado por Abel et al. (2001) em que o balanço ruminal de biotina foi reduzido drasticamente (1.53 vs. 0,34 $\mu\text{g/d}$; respectivamente para as dietas contendo 83% e 16% de forragem - Gráfico 12) com a elevação do teor de concentrado na dieta. Essa informação é muito importante principalmente devido à elevação do teor de concentrado nas dietas brasileiras nos últimos anos (Pinto e Millen, 2016) o que aponta para uma maior importância da suplementação de biotina nas dietas de bovinos confinados.

A deficiência de biotina está relacionada principalmente com cascos moles e quebradiços, devido à redução na diferenciação de células epiteliais (Zeoula e Geron, 2011). De acordo com Mock (1996, citado por Tomlinson et al, 2004), a deficiência também está associada com uma menor atividade da enzima piruvato, que por sua vez está relacionada com o desenvolvimento de acidose láctica.

Gráfico 12 - Efeito do aumento do teor de concentrado na dieta sobre o balanço de biotina no conteúdo ruminal.

Fonte: Adaptado de Abel et al., 2001.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De maneira geral as recomendações atuais de vitaminas para ruminantes são baseadas, em sua grande maioria, em estudos realizados na década de 1960 e 1970. Por esse motivo, devido aos grandes avanços em melhoramento genético e nos ajustes dietéticos das exigências de energia e proteína, por exemplo, essas recomendações vitamínicas podem estar subestimadas.

Pesquisas mais recentes demonstram resultados positivos da suplementação vitamínica em níveis mais elevados que os estabelecidos nas últimas edições dos guias de recomendações, e por isso devem ser levados em considerações nas formulações. Além de garantirem um melhor desempenho para os animais, as vitaminas promovem uma queda na ocorrência de doenças e

trazem mais qualidade de carne, aumentando a lucratividade da atividade.

Novos estudos vêm surgindo com foco de reestabelecer níveis ótimos para suplementação vitamínica, no tocante às vitaminas lipossolúveis e gerar informações sobre as hidrossolúveis, ampliando assim a possibilidade de incrementos produtivos via suplementações mais adequadas aos sistemas atuais de produção de bovinos de corte.

REFERÊNCIAS

- ABEL, H.; IMMIG, I.; DA COSTA GOMEZ, C.; STERNBERG, W. Effect of increasing dietary concentrate levels on microbial biotin metabolism in the artificial rumen simulation system (RUSITEC). **Archiv Fur Tierernahrung**, v. 55, p. 371-376, 2001.
- ARNOLD, R.N.; SCHELLER, K.K.; ARP, S.C.; WILLIAMS, S.N.; BUEGE, D.R.; SCHAEFER, D.M. Effect of long- or short-term feeding of alpha-tocopheryl acetate to Holstein and crossbred beef steers on performance, carcass characteristics, and beef color stability. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3055-3065, 1992.
- BRIGGS, M.H.; HEARS, T.W.; WHITEROFT, A.; HOGG, M.L. Studies of urea fed cattle: rumen levels of B vitamins and related coenzymes. **Life Sciences**, v. 3, p. 11-14, 1964.
- CAMPBELL, J.R.; GREENOUGH, P.R.; PETRIE L. The effects of dietary biotin supplementation on vertical fissures of the claw wall in beef cattle. **Canadian Veterinary Journal**, v. 41, p. 690-694, 2000.
- CARNAGEY, K.M.; HUFF-LONERGAN, E.J.; LONERGAN, S.M.; TRENKLE, A.; HORST, R.L.; BEITZ, D.C. Use of 25-hydroxyvitamin D3 and dietary calcium to improve tenderness of beef from the round of beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 1637-1648, 2008.
- CASALS, R.; CALSAMIGLIA, S. Optimum Vitamin Nutrition in Beef Cattle, in: Optimum Vitamin Nutrition. 5M Publishing, Sheffield, United Kingdom, p. 309–333. 2012.

- CELI, P.; WILLIAMS, S.; ENGSTROM, M.; MCGRATH, J.; LA MARTA, J. Safety evaluation of dietary levels of 25-hydroxyvitamin D3 in growing calves. *Food and Chemical Toxicology*, v. 111, p. 641-649, 2018.
- COFFEY, J.D.; HINES, E.A.; STARKEY, J.D.; STARKEY, C.W.; CHUNG, T.K. Feeding 25-hydroxycholecalciferol improves gilt reproductive performance and fetal vitamin D status. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 3783-3788, 2012.
- COLLI, M. H. A.; GONÇALES JUNIOR, W. A.; MOTTA, J. C.; GOUVEA, V. N. D.; ACEDO, T. S.; TAMASSIA, L. F. M.; ELLIFF, F.M.; MINGOTI, R.D.; BARUSELLI, P.S. The combination of β -carotene and vitamins improves the pregnancy rate at fixed time artificial insemination (FTAI) in grazing beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 95, p. 69, 2017.
- FOOTE, M.R.; HORST, R.L.; HUFF-LONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H.; PARRISH, F.C. JR.; BEITZ, D.C. The use of vitamin D3 and its metabolites to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 242-249, 2004.
- GOROCICA-BUENFIL, M.A.; FLUHARTY, F.L.; REYNOLDS, C.K.; LOERCH, S.C. Effect of dietary vitamin A concentration and roasted soybean inclusion on marbling, adipose cellularity, and fatty acid composition of beef. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 2230-2242, 2007.
- HERNÁNDEZ, J.M.; WEBER, G.; SOTO-SALANOVA, M.F. The importance of optimum vitamin nutrition for the food chain, in: *Optimum Vitamin Nutrition*. 5M Publishing, Sheffield, United Kingdom, p. 11-38. 2012.
- HINES, E.A.; COFFEY, J.D.; STARKEY, C.W.; CHUNG, T.K.; STARKEY, J.D. Improvement of maternal vitamin D status with 25-hydroxycholecalciferol positively impacts porcine fetal skeletal muscle development and myoblast activity. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 4116-4122, 2013.
- HORST, R.L.; REINHARDT, T.A. Vitamin D metabolism in ruminants and its relevance to the periparturient cow. **Journal of Dairy Science**, v. 66, p. 661-678, 1983.
- LIU, Q.; SCHELLER, K.K.; SCHAEFER, D.M. Technical note: a simplified procedure for vitamin E determination in beef muscle. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 2406-2410, 1996.
- McDOWELL, L.R. *Vitamins in Animal and Human Nutrition*, 2nd ed., Iowa State. 2000.

- McDOWELL, L.R. Recents advanced in minerals and vitamins on nutrition of lactating cows. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL EM BOVINOCULTURA DE LEITE, 2, 2001, Lavras, **Anais...**, Lavras: UFLA, p. 51-76, 2001.
- MADUREIRA, A. M. L.; GUIDA, T. G.; CERRI, R. L. A.; VASCONCELOS, J. L. M., 2016. Effect of Serum Concentration of Beta-Carotene at AI on Productive and Reproductive Parameters in Lactating Holstein Cows. In: ADSA-ASAS Joint Annual Meeting, Salt Lake City, Utah.
- MONTGOMERY, J.L.; PARRISH, F.C. JR.; BEITZ, D.C.; HORST, R.L.; HUFF-LONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H. The use of vitamin D3 to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 2615-2621, 2000.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requeriments of beef cattle: Update 2000. 7. rev.ed. Washinton: National Academy Press, 1996. 242 p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requeriments of dairy cattle. 7. rev.ed. Washinton, D.C., 2001. 381p.
- NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE. 2016. Nutrient Requirements of Beef Cattle, Eighth Revised Edition. Washington, DC: The National Academies, 2016. 494p.
- OKA, A.; MARUO, Y.; MIKI, T.; YAMASAKI, T.; SAITO T. Influence of vitamin A on the quality of beef from the Tajima strain of Japanese Black cattle. **Meat Science**, v. 1998, p. 159-167, 1998.
- OLIVEIRA, R.C.; GUERREIRO, B.M.; MORAIS JUNIOR, N.N.; ARAUJO, R.L.; PEREIRA, R.A.; PEREIRA, M.N. Supplementation of prepartum dairy cows with β -carotene. **Journal of Dairy Science**, v. 98, p. 6304-6314, 2015.
- PASCHOAL, J.J.; ZANETTI, M.A.; CUNHA, J.A. Efeito da suplementação de selênio e vitamina E sobre a contagem de células somáticas do leite de vacas da raça holandesa. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32 , p.2032-2039, 2003
- PINTO, A.C.J.; MILLEN, D.D. Situação atual da engorda de bovinos em confinamento e modelos nutricionais em uso. In: X Simpósio Internacional de Produção de Bovinos de Corte, Viçosa. **Anais...** Viçosa: DZO-UFV, 103-120, 2016.
- REINHARDT, T.A.; HUSTMYER, F.G. Role of vitamin D in the immune system. **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 952-962, 1987.

- SALLES, J.; CHANET, A.; GIRAUDET, C.; PATRAC, V.; PIERRE, P.; JOURDAN, M.; LUIKING, Y.C.; VERLAAN, S.; MIGNÉ, C.; BOIRIE, Y.; WALRAND, S. 1,25(OH)₂-vitamin D₃ enhances the stimulating effect of leucine and insulin on protein synthesis rate through Akt/PKB and mTOR mediated pathways in murine C2C12 skeletal myotubes. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 57, p. 2137-2146, 2013.
- SCHERF, H.; MACHLIN, L. J.; FRYE, T. M.; KRAUTMANN, B. A.; WILLIAMS, S. N. Vitamin E biopotency: Comparison of various 'natural-derived' and chemically synthesized α -tocopherols. **Animal Feed Science and Technology**, v. 59, p. 115-126.
- SWANEK, S.S.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N.; GILL, D.R.; STRASIA, C.A.; DOLEZAL, H.G.; RAY, F.K. Vitamin D₃ supplementation of beef steers increases longissimus tenderness. **Journal of Animal Science**, v.77, p.874-881, 1999.
- TOMLINSON, D.J.; MULLING, C.H.; FAKER, T.M. Invited review. Formation of keratins in the bovine claw: roles of hormones, minerals and vitamins in functional claw integrity. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 797-809, 2004.
- VALADARES FILHO, S.C.; COSTA E SILVA, L.F.; GIONBELLI, M.P.; ROTTA, P.P.; MARCONDES, M.I.; CHIZZOTTI, M.L.; PRADOS, L.F. Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados – BR CORTE. 3 ed. Viçosa: UFV, Suprema Gráfica Ltda. 2016.
- VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; CHIZZOTTI, M.L.; PAULINO, P.V.R. Exigências Nutricionais de Zebuínos Puros e Cruzados – BR CORTE. 2 ed. Viçosa: UFV, Suprema Gráfica Ltda. 2010.
- VIGNALE, K.; GREENE, E.S.; CALDAS, J.V.; ENGLAND, J.A.; BOONSINCHAI, N.; SODSEE, P.; POLLOCK, E.D.; DRIDI, S.; COON, C.N. 25-hydroxycholecalciferol enhances male broiler breast meat yield through the mTOR pathway. **The Journal of Nutrition**, p. 1-9, 2015.
- WERTZ, A.E.; KNIGHT, T.J.; TRENKLE, A.; SONON, R.; HORDT, R.L.; HUFFLONERGAN, E.J.; BEITZ, D.C. Feeding 25-hydroxyvitamin D₃ to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 1410-1418, 2004.
- ZANETTI, M.A.; NEUNHAUS, L.E.D.; SCHALCH, E.D.; MARTINS, J.H. Efeito da suplementação de Selênio e Vitamina E em bovinos leiteiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.27, p.405-408, 1998.

- ZEOULA, L.M.; GERON, L.J.V. Vitaminas. In. *Nutrição de Ruminantes*, 2. ed., Berchielle, T.T.; Pires, A.V.P.; Oliveira, S.G. Jaboticabal: Funep, 2011. 615 p.
- ZIMMERLY, C.A., WEISS, W. P. Effects of supplemental dietary biotin on performance of Holstein cows during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 498-506, 2001.

ADDITIVES THAT ALTER RUMINAL FERMENTATION AND GASTROINTESTINAL FUNCTION IN BEEF CATTLE

**Karen A. Beauchemin, Karen M. Koenig, WenZhu Yang, and
Tim A. McAllister**

*Agriculture and Agri-Food Canada, Lethbridge Research and Development Centre, Lethbridge,
Alberta CANADA*

INTRODUCTION

Feed additives are mainly used in beef cattle diets to beneficially alter rumen fermentation, prevent rumen acidosis, and improve feed efficiency. There is also interest in the potential of certain feed additives as alternatives to antibiotic growth promoters, and with increased emphasis on environmental sustainability, feed additives that reduce enteric methane (CH₄) emissions from cattle are being investigated. The purpose of this review is to provide an update on the feed additives currently available for beef cattle, and to offer perspective on new compounds that show promise for the future.

WHEN TO USE FEED ADDITIVES AND WHAT TO USE

The decision on whether to use a feed additive depends on the cost of the additive relative to the expected improvements in performance and the certainty of attaining performance benefits. With a high cost feed additive, a measureable performance benefit is expected, whereas low cost additives are often viewed as “preventative insurance”.

There is a long list of potential feed additives for beef cattle, and many different formulations and commercial brands of each exist. Some products such as ionophores have been thoroughly researched, while others lack rigorous evaluation or are at the experimental stage. While the use of ionophores in beef cattle diets is cost-effective, pressure on the industry to reduce antibiotic use has stimulated interest in finding cost-effective alternatives. It can be very

difficult for producers and consultants to weigh all the information to make an informed decision on which additives to use. Table 1 shows a list of some of the products available for beef cattle.

Table 1 - Some feed additives used to alter ruminal fermentation and gastro-intestinal function in beef production

Feed Additive	Primary Rationale for Use	Probability of Economic Return for Beef Cattle	General Feeding Rate
Ionophore antibiotics	Decreased feed intake, increased feed efficiency	High	200 - 400 mg/d
Buffers	Stabilization of rumen pH	Low (Feedlot)	0.75 - 1% of DM
Bacterial direct fed microbials	Maintains low concentrations of lactic acid in the rumen, increases propionate synthesis	Low	1×10^8 to 1×10^{12} colony forming units
Essential oils	Anti-microbial effects	Moderate, highly variable amongst formulations	< 2 g/d
Saponins	Anti-protozoal effects	Experimental	--
Tannins	Binds with protein, decreases nitrogen excretion and methane emissions	Experimental	< 3% of DM
Active dry yeast	Improved feed consumption, improved fiber digestion	Moderate	1-4 g/d
Yeast culture	Improved feed consumption, improved fiber digestion	Moderate	Variable
Enzymes	Improved fiber digestion	Experimental, depends on formulation	--
3-Nitrooxypropanol methane inhibitor	Methane reduction, may improve feed efficiency	Experimental	1-2 g/d
Nitrate	Methane reduction, may improve feed efficiency in finishing cattle	Depends on price of non-protein nitrogen sources	Max 2% of diet DM (substitute for urea), adaptation needed

WHY USE FEED ADDITIVES: PREVENTING RUMEN ACIDOSIS

For beef cattle to achieve their genetic potential for growth, it is critical that the rumen environment be kept in a “healthy” state. Keeping the rumen healthy promotes dry matter intake (DMI), maximizes fiber digestion, helps maintain the integrity of the gut, and prevents rumen acidosis, bloat, diarrhea and other illnesses. Oliveira and Millen (2014) surveyed feedlot cattle nutritionists in Brazil with 34% stating that acidosis was the main health problem faced by their clients. Cattle that are transitioned from high-forage to high-grain diets can be at risk for rumen acidosis because of the instability of the rumen microbial population during diet adaptation. Wiese et al. (2017) measured reticulo-rumen pH during a 40-d diet transition in a commercial feedlot and reported that 83% of the cattle experienced at least 1 bout of subacute rumen acidosis (SARA), with most experiencing between 1 and 3 bouts with each diet transition. The data also showed that frequency of bouts of SARA increased with increasing proportion of concentrate in the diet. Castillo-Lopez et al. (2014) showed that once feedlot cattle were fully adapted to high grain diets, severity and prevalence of SARA increased with days on feed. Thus, cattle are increasingly susceptible to SARA during the diet transition period and later in the finishing phase (> 100 d).

Low rumen pH can occur as either SARA or acute acidosis. SARA occurs in repeated bouts where pH is < 5.6 for > 3 h/d, but unlike the situation for acute acidosis, the pH recovers between bouts. SARA is due to rapid fermentation of feed in the rumen and subsequent accumulation of volatile fatty acids (VFA; acetate, propionate, butyrate), whereas acute acidosis is caused by accumulation of lactic acid in the rumen. Acute acidosis is characterized by sustained low pH (< 5.2) without recovery unless intervention is used.

There are major consequences of SARA: decreased fiber digestion, impairment of the rumen epithelium, increased rumen osmotic pressure, reduced rumen motility, and so forth. Fiber digestion is compromised because the microbial enzymes necessary for fiber breakdown do not function effectively at pH < 6.0 and the

growth rate of fibrolytic bacteria declines markedly at low pH. When rumen pH is < 5.8 for several hours or more, acid tolerant bacterial species, rather than fiber-digesting bacteria, dominate. However, decreased fiber digestion due to SARA is not likely a major issue for beef cattle because prevalence of SARA is low for mature cows and backgrounding cattle. For feedlot finishing cattle, decreased fiber digestion would have minimal effects on animal performance due to the low fiber levels in the diet.

Impairment of the rumen epithelium and onset of ruminal parakeratosis (Steele et al. 2009) due to low ruminal pH can reduce absorptive efficiency of VFA from the rumen (Harmon et al. 1985). The main function of the rumen epithelium is to protect unregulated movement of microorganisms, toxins and other undesirable compounds from moving into the portal circulation. However, SARA increases the permeability of the rumen and thus selectivity is decreased. Damage to barrier function of the rumen epithelium may increase translocation of bacteria from the rumen to the blood leading to liver abscess. Furthermore, increased absorption of histamine from the rumen during acidosis (Aschenbach and Gäbel 2000) can contribute to lameness of cattle.

The osmotic pressure in the rumen is in balance with the osmotic pressure of blood. An increase in osmotic pressure of the rumen due to rapid fermentation of feed can cause blood osmotic pressure to increase triggering a negative feedback that decreases absorption of VFA. This results in further accumulation of VFA in rumen fluid and decline in rumen pH (López et al. 1994). Water movement through the rumen epithelium into the rumen resulting from increased osmotic pressure decreases salivary flow (Warner and Stacy 1977), which can exacerbate acidosis.

Contractions of the rumen move the endproducts of digestion to the epithelium for absorption and the secretions of bicarbonate from the epithelium into the ruminal contents. Contractions also help propel fluid, soluble compounds, microbial cells, and undigested feed residues out of the rumen, and eructation contractions expel gas from the rumen. During acute acidosis rumen contractions are almost non-

existent, and during SARA they are greatly reduced, which negatively affects rumen function and digesta passage. With decreased flow from the rumen, DMI decreases.

The challenges of maintaining healthy rumen function and avoiding SARA in cattle has prompted the use of various feed additives, including ionophores, bacterial direct fed microbials, yeast products, and buffers.

WHY USE FEED ADDITIVES: METHANE INHIBITION

Methane is a potent greenhouse gas and a loss of potential energy for the animal; 2 to 10% of the total gross energy consumed by ruminants is converted to CH₄ and released via the breath. Decreasing CH₄ would help reduce the environmental impact of beef production, and could increase metabolizable energy available for the animal for growth (although few studies have demonstrated this concept). Hence, there is interest in reducing enteric CH₄ emissions from ruminants and many comprehensive reviews have been published (e.g., Beauchemin et al. 2009; Hristov et al. 2013; Knapp et al. 2014). Enteric CH₄ is a byproduct of microbial fermentation of feed in the rumen; CH₄-producing Archaea (methanogens) reduce CO₂ to CH₄ to prevent hydrogen from accumulating in the rumen. Mitigating CH₄ emissions from beef cattle without decreasing DMI or digestibility is challenging. Feed additives such as 3-nitrooxypropanol and nitrate show promise of reducing CH₄ of cattle raised in confinement, but these strategies are difficult to implement with grazing cattle.

FEED ADDITIVES FOR BEEF CATTLE

Ionophores

Ionophores have been well researched and are widely used in commercial cattle production so only a very short synthesis follows. Ionophores are toxic to many gram-positive bacteria because they disrupt the ionic gradient across the bacterial cell wall

and lower intracellular pH. As a result, ionophores shift rumen fermentation towards more propionate and less acetate and butyrate. Many proteolytic bacteria are inhibited by monensin, and therefore feed degradation and ammonia concentration in the rumen decrease, while flow of dietary feed protein from the rumen increases (Schelling 1984). Based on a review of the literature, the new Beef Cattle Nutrient Research Model (NASME 2016) concluded that the major effects of using ionophores are: 1) on average, a 3% reduction in DMI when monensin is fed regardless of the diet composition (no decrease when lasalocid or laidlomycin propionate are fed), and 2) improved average daily gain (ADG) and feed efficiency that equate to increased (2.3% for monensin, 1.5% for lasalocid and laidlomycin propionate) metabolizable energy availability. In a meta-analysis of 62 beef studies, Duffield et al. (2012) reported that monensin use (average concentration 28 mg/kg DM) in growing and finishing beef cattle reduced (-3%) DMI and improved ADG (+2.5%) and feed efficiency (+6.4% overall, but 2.5 to 3.5% in the last 2 decades). Diets that contained mainly corn silage resulted in a greater improvement in feed efficiency and a larger effect on reducing DMI when supplemented with monensin compared with other diets. Furthermore, responses increased with dose of monensin. In recent years, monensin levels in commercial feedlot diets have tended to increase to > 40 mg/kg because high concentrate diets that contain highly processed grains are less responsive to monensin addition (DiLorenzo and Galvayan 2010).

Rumen Buffers

Considerable research has been conducted to establish the role of buffers such as sodium bicarbonate in ruminant diets, with emphasis on dairy diets. Numerous studies have shown that added sodium bicarbonate can slightly increase ruminal pH. However, production responses to buffers in beef cattle diets are generally minimal or variable. Greatest benefits of feeding buffers (0.5 to 1% of diet DM) arise during diet transition from high forage to high concentrate (NASEM 2016), with relatively little effect when cattle

are on full feed. Lack of response may be due to the increased liquid outflow rate from the rumen caused by increased osmotic pressure, and the concomitant increased outflow of starch and reduced ruminal digestibility. Buffers have not been widely adopted by the beef cattle industry due to the perceived cost:benefit ratio. However, adding buffer to the diet could be beneficial during diet transition when risk of rumen acidosis is highest. When providing buffers to cattle, it is recommended that they be incorporated into the diet rather than offered free choice because overconsumption by some animals increases the cost of feeding.

Bacterial Direct-fed Microbials

Bacterial direct-fed microbials (DFM) are fed to enhance ruminal lactic acid metabolism through inoculation with lactic acid utilizing bacteria, and sometimes lactic acid producing bacteria (Table 2). It is hypothesized that feeding lactic acid producing bacteria would maintain slightly elevated concentrations of lactic acid in the rumen, which would stimulate the inherent ruminal population of lactic acid utilizing bacteria (McAllister et al. 2011). Increased presence of lactic acid utilizing bacteria could then quickly respond to any increase in lactic acid concentration resulting from destabilization of the rumen microbial population. Most lactic acid utilizers convert lactate to propionate, with propionate being the major energy precursor for the animal.

The major assumptions of feeding DFM targeted at controlling lactic acid concentration are: the cause of low pH is lactic acid accumulation, and the DFM integrates into the rumen microbiome and is metabolically active in a manner that changes rumen fermentation. However, these assumptions may be incorrect. Accumulation of lactic acid in the rumen is not the cause of SARA and there is minimal evidence that DFM establish in the rumen. For example, we conducted several studies with various *Propionibacterium* strains supplemented in the diet of beef cattle fed high forage or high grain diets (Vyas et al. 2014a, 2014b). *Propionibacterium* is a natural inhabitant of the rumen that utilizes lactic acid and produces propionate.

Ruminal lactic acid concentrations in these studies were very low (< 1 mM), and there was no increase in propionate concentration or rumen pH due to DFM supplementation. We observed that the *Propionibacterium* population in the rumen increased after feeding the DFM, but the increase was short lived. We attributed the lack of treatment effects on ruminal fermentation to the low persistency of inoculated strains within the rumen microbiome.

Table 2 - The main bacterial species used in direct fed microbials

Lactic acid utilizers (produce propionate)	Lactic acid producers
<i>Megasphaera elsdenii</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Prevotella bryantii</i> 25A	<i>Lactobacillus planetarium</i>
<i>Propionibacterium freudenreichii</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>

In addition to potentially stabilizing rumen pH, some studies show beneficial post-ruminal effects of bacterial DFM related to decreased concentration of harmful enteropathogens that inhabit the lower digestive tract. It has been suggested that DFM might promote competitive inhibition of pathogenic microorganisms, exhibit antibacterial effects, and enhance immune function, but these effects require further study.

Overall, the results of feeding bacterial DFM to beef cattle have been highly inconsistent, which might relate to dose and viability of the organism. Few studies have employed molecular techniques to study in detail the interaction of DFM with native microbial communities or the ruminant host. Currently, use of bacterial DFM is most likely to be cost-effective for young stock and receiving cattle entering the feedlot. A significant challenge with bacterial DFM products is the need to maintain viability of the organisms because the microorganisms need to be living to be effective. It is important to follow the manufacturer's storage and handling recommendations because bacterial DFM products are very sensitive to oxygen. For example, *Megasphaera elsdenii*, a strict anaerobe that dies with exposure to oxygen, must be provided

to animals in the form of a drench, which requires additional labor and animal handling.

Live Yeast and Yeast Cultures

There is an overwhelming body of work that supports feeding yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) to dairy cattle to improve rumen health and production efficiency. Fewer studies have been conducted in beef cattle, and to date the evidence for cost-effective use of yeast products is less convincing, especially in diets containing monensin. Commercial yeast products are categorized as either active dry yeast (ADY) that contains viable cells (>10 billion colony forming units per gram [cfu/g]) or yeast culture that contains yeast plus culture medium. To produce ADY, *Saccharomyces cerevisiae* is grown on a fermentable substrate in a controlled aerobic fermentation where yeast biomass is the result. After the appropriate number of generations, the mature cell mass is separated from the spent liquid, filtered and dried into instant dry yeast. Yeast culture is produced using a similar fermentation process, but the final step is to dry the entire culture media, normally onto a carrier (e.g., wheat middlings), without destroying the B-vitamins and other fermentation products. Commercial yeast cultures are fed at higher rates than ADY because they are fed for the metabolic effects of the nutrients supplied, rather than for the metabolic activity of the yeast itself. Commercial yeast cultures also range substantially in feeding rate depending on the concentration of fermentation products.

Active dry yeast does not appear to grow in the rumen, but it can retain metabolic activity. Durand-Chaucheyras et al. (1998) showed a single dose of live yeast cells persisted in the rumen of lambs for about 30 h at a level close to the initial value, after which the yeast gradually cleared. Kung et al. (1997) showed using continuous culture that after the last supplement of ADY was fed, numbers of yeast immediately decreased in the fermentors and were not detectable after 24 h. Although yeast does not generally

colonize the rumen, a lack of growth should not be confused with a lack of metabolic activity.

Many *in vitro* and animal metabolism studies have examined the effects of yeast and provide evidence for changes in rumen fermentation, stabilization of rumen pH, stimulation of the growth and metabolism of lactate-utilizing bacteria, scavenging of oxygen present in the ingested feed particles (ADY only), promotion of growth of ruminal protozoa, and improvement in fiber digestion (Chaucheyras-Durand et al. 2008; McAllister et al. 2011).

Published studies on the effects of feeding yeast to beef cattle are limited in comparison with the considerable research that has been conducted for lactating animals (Sartori et al. 2017). In a review of the use of yeast for growing dairy animals fed forage based diets (which could be relevant to growing beef cattle), Lascano and Heinrichs (2007) concluded that although the results were highly variable, most studies reported limited influence of yeast on DMI and ADG. For feedlot cattle fed high grain diets, Erasmus et al. (2009) conducted a meta-analysis of the effect of one ADY product (*S. cerevisiae* CNCM I-1077, Levucell SC; Lallemand Animal Nutrition) fed with and without monensin to feedlot cattle. The ADG of control cattle was lower (1.45 kg/d) than those supplemented with ADY only (1.54 kg/d) or monensin only (1.54 kg/d), but there was no advantage of combining the products (1.57 kg/d). The same effects were observed for feed conversion ratio (control 6.61; ADY 6.40; monensin 6.32; ADY + monensin 6.13 kg DM/kg gain), although there was a numerical improvement with the combination of products. In a meta-analysis of 12 papers that used yeast culture or ADY, Sartori et al. (2017) concluded that supplementation with yeast in the diet of beef cattle had no effect on ADG but feed conversion was improved due to a reduction in DMI. However, there were large differences in responses to ADY among studies, likely because whether ionophores were fed was not factored into the analysis and no distinction was made between short term metabolism studies and long term growth studies.

Because monensin is widely used in beef cattle diets, the effects of feeding yeast need to be incremental to those of monensin. However, in production systems that do not use ionophores and antibiotics, yeast has the potential to improve feed conversion ratio through improved rumen function and feed digestion. For example, Scott et al. (2017) compared feeding a diet containing monensin, tylosin, and bacterial DFM to a diet containing yeast culture (NaturSafe, Diamond V, Cedar Rapids, IA), and observed similar performance, carcass characteristics and liver abscess of the cattle. It was also reported that the cattle fed yeast culture were significantly less likely to shed *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 than the control cattle fed monensin, tylosin, and bacterial DFM (Feye et al. 2016). Future study of the potential for feeding ADY and yeast culture to feedlot cattle is warranted given the interest in alternative production practices. From the literature it appears that the effects of yeast in beef diets is often small and dose dependant, with greater responses for receiving cattle and feedlot finishing cattle fed high grain diets that don't include ionophores. There is also considerable variability in the individual responses of animals to yeast depending upon their rumen microbiome.

Animal variability. Mohammed et al. (2017) fed beef cattle a diet of 50% forage that did not include ionophore. Based on continuous measurements of rumen pH, the cattle were characterized as being more or less susceptible to SARA. The more susceptible cattle benefited when fed ADY, especially when the yeast was viable (Table 3). However, when the cattle were subjected to a grain challenge, yeast failed to attenuate severe acidosis. The study showed that yeast can help stabilize rumen pH of cattle that are prone to SARA, but yeast will not prevent acute acidosis.

Table 3 - Effectiveness of yeast treatment for beef cattle grouped by susceptibility to rumen acidosis during a baseline period (Mohammed et al. 2017)

	Most susceptible			Least susceptible		
	Control	Viable ADY	Non-viable ADY	Control	Viable ADY	Non-viable ADY
Lactate, mM	0.53	0.09	0.19	0.03	0.02	0.01
Minimum pH	5.26	5.55	5.53	6.03	6.08	5.99
Mean pH	5.93	6.30	6.18	6.55	6.68	6.56
pH<5.8, min/d	771.7	122.7	350.7	149.0	2.00	0.00
‡AUC pH<5.8	276.9 ^a	17.9 ^b	65.5 ^b	30.2 ^b	0.08 ^b	0.0 ^b
pH<5.5, min d ⁻¹	542.7 ^a	16.3 ^b	64.3 ^b	30.0 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b
AUC pH<5.5	72.4 ^a	1.0 ^b	2.6 ^b	1.1 ^b	0.0 ^b	0.0 ^b

^{a-b} Values within a row with different letters differ ($P < 0.05$). ‡AUC = area under the curve.

Post-ruminal effects of yeast. A recent study from Jiao et al. (2017) showed the potential post-ruminal benefits of feeding yeast to beef cattle. The ADY was micro-encapsulated to protect it from rumen degradation. Exposure of the encapsulated ADY to pancreatin solution released the yeast, indicating that it was available post-ruinally. Supplementing the diet of beef cattle with encapsulated ADY improved the digestibility of organic matter in the intestine and in the total digestive tract mainly due to an improvement of neutral detergent fiber (NDF) digestion. These results indicate the possibility of feeding protected yeast to improve intestinal digestibility of nutrients. The post-ruminal benefits of feeding encapsulated feed additives is a topic that needs further research.

Essential Oils

There are a number of thorough reviews on the use of essential oils (EO) as ruminant feed additives (Benchaar et al. 2008; Cobellis et al. 2016). EO are the volatile components produced by plants that give them their characteristic essence and color (Table 4).

They are extremely diverse in chemical composition and can be broadly categorized as terpenes (terpenoids when associated with oxygen) or phenylpropanoids. Most EO contain high concentrations of terpenes and terpenoids (e.g., limonene from lime, thymol from thyme, carvacrol from oregano, linalool from several plants, and carvone from caraway, spearmint, and dill). In contrast, the phenylpropanoid content of most EO is low, with some exceptions such as cinnamaldehyde from cinnamon, eugenol from cloves, and anethole from anise. Some EO contain other compounds (e.g., garlic oil contains various sulphur compounds).

Numerous *in vitro* studies have evaluated many different EO products at varying dose rates for their effects on rumen fermentation. Based on these studies, several modes of action have been proposed. Some EO have antimicrobial properties that make them potential alternatives to antibiotics to manipulate microbial activity in the rumen. Similar to monensin, gram-positive bacteria are more susceptible to EO than are gram-negative bacteria. Terpene EO are lipophilic and accumulate in the lipid bilayer of the plasma membrane and disrupt the cell wall structure of bacteria. Others disrupt the ion gradient across the plasma membrane limiting cell growth.

The research with EO in ruminant nutrition has centered upon their potential to improve ruminal N use efficiency and energy utilization. However, few animal feeding studies have been conducted using beef cattle, and many of these studies have been short-term (Table 4). Overall, the results from these feeding studies are very inconclusive, but there are some examples of potential beneficial effects for beef cattle. Because the composition of EO products is highly variable (due to growing conditions of the plants, extraction method, purity, dose, chemical constituents, etc.), and the effects are dose and diet related, it is difficult to make broad conclusions about the effects of EO on rumen fermentation and animal performance. Future study on the antioxidant and anti-inflammatory properties of EO products is needed, as they have potential to improve the immunity of stressed animals.

Table 4 - Partial summary of studies with beef cattle fed essential oil products

Essential oil product	Dose	Experiment conditions	Major Effects	Reference
Crina ruminant blend, DSM	1 g/d	16 animals, Latin square, silage based diet	No effect on DMI or gain Lowered DM and NDF digestibility. No effect on methane or rumen fermentation.	Beauchemin and McGinn 2006
Crina ruminant blend, DSM	1 and 2 g/d	5 steers, Latin square, hay diet	Increased butyrate and isovalerate proportions. Reduction in fungal colonisation. No effect on methane production.	Tomkins et al. 2015
Cinnamaldehyde	400, 800, or 1,600 mg/d	70 steers, feedlot finishing diet	Quadratic increase in DMI in first 28 days, no effect overall on DMI or ADG.	Yang et al. 2010a
Cinnamaldehyde	400, 800, or 1,600 mg/d	4 heifers, Latin square, feedlot finishing diet	Quadratic increase in DMI. Amount of organic matter fermented in the rumen quadratically increased. Ruminal and total tract digestibility of NDF decreased with high dose. No major effect on rumen fermentation.	Yang et al. 2010b
Cinnamaldehyde or thymol	5 g/d	4 Holstein bull calves/treatment, 45 d feeding period, feedlot finishing diet	No effect on DMI, ADG, or feed efficiency. No effect on ruminal pH and rumen concentrations of ammonia nitrogen and total VFA. Proportion of acetate and ratio of acetate to propionate decreased, and the molar proportion of propionate increased with thymol and cinnamaldehyde supplementation.	Vakili et al. 2013
Eugenol	400, 800, and 1600 mg/d	Latin square, 4 ruminally and duodenally cannulated beef heifers, feedlot finishing diet	Tended to provide more protein by tending to increase microbial protein production and lowering protein degradation in the rumen. Lowered acetate to propionate ratio.	Yang et al. 2010c
Anise extract or capsicum	500 mg/d	4 Holstein heifers, Latin square, feedlot finishing diet	Capsicum increased DMI and butyrate proportion and reduced acetate proportion. Anise reduced VFA, NH ₃ -N, acetate proportion and protozoa and increased propionate proportion.	Fandiño et al. 2008
Activo Premium, Grasp	150 mg/kg DM	88 steers, background-ing and finishing diets	No effects on DMI, ADG or methane	Beauchemin, unpublished

ADG, average daily gain; DM, dry matter; DMI, dry matter intake; NDF, neutral detergent fiber; NH₃-N, ammonia nitrogen; VFA, volatile fatty acids.

Enzymes

Enzyme additives are concentrated fermentation products with specific enzyme activities, with amylases, cellulases, hemicellulases and proteases of interest for ruminants. Most research with ruminant feed enzymes has examined the potential to increase animal productivity through increased fiber digestion, although some limited work has also been done with amylases to improve starch utilization and proteases to improve protein availability. Enzyme technology for ruminants is still developing, and as such, availability of commercial enzyme products for beef cattle is limited (Meale et al. 2014). Some bacterial DFM products also contain enzyme activity, but the dose rate is orders of magnitude lower than levels supplied by feed enzyme products and the effectiveness of low-dose enzymes is unsubstantiated.

Most of the work with feed enzymes has been focused on dairy cows. In a meta-analysis of 13 dairy studies with various fibrolytic enzymes, Arriola et al. (2017) reported that overall, enzymes did not affect DMI but tended to increase total tract DM and NDF digestibility (+1.4 and +2.3%, respectively), and milk yield (+0.83 kg/d). However, there was considerable variability in responses among enzyme formulations. Fewer studies have been conducted for beef cattle and results vary among studies (Beauchemin and Holtshausen 2010), thus it is not possible to promote the use of feed enzyme additives for beef cattle at this time.

Continued development of feed enzymes for ruminants is warranted because there is abundant supply of low quality fibrous biomass could be used as feed for cattle if digestibility could be improved. However, more research is needed to understand what types of enzyme activities are needed, and how enzymes interact with the rumen microbial ecosystem and its associated carbohydrases.

Tannins

Tannins are polyphenolic compounds in plants that exist in two major groups: hydrolyzable tannins (HTs) and condensed tannins (CTs). HTs contain carbohydrate (generally glucose) as a central core esterified with phenolic groups such as gallic acid or ellagic acid, with molecular weights ranging from 500 to 5,000 Da. CTs have high molecular weight (10,000 to 20,000 Da) and are a diverse group of oligomers and polymers of flavanoid units (i.e., flavan-3-ols, flavan-3, 4-diols, and bioflavans) linked by carbon-carbon bonds. HTs are degraded in the rumen and may cause toxic effects in ruminants. In contrast, CTs resist microbial degradation and form complexes with protein including the outer membrane proteins of bacteria. Tannin-protein complexes reduce degradation of plant protein to ammonia in the rumen, thereby enhancing the flow of feed protein to the intestines. For high protein diets, the protein-binding effect of CTs could be beneficial for the environment, as reduced protein digestion would be expected to reduce the excretion of nitrogen (N) in urine, which is highly volatile. There is also interest in using CTs to reduce CH₄ production through inhibition of the growth of methanogens (Beauchemin et al. 2009).

Most research investigating the effects of tannins for ruminants has been with tannin-containing forages; however, tannins can also be extracted from plants and used as feed additives. This could be especially attractive in areas where tannin-containing forages are not available or are of low feeding value. Specific tannins at low concentrations have been shown to improve N utilization and weight gain, but results are highly variable. When tannins were extracted from *Acacia mearnsii* and fed at 2.5% of the dietary DM to feedlot cattle, route of N excretion was shifted from urea N in urine to a more stable organic form in feces with no detrimental effect on feed intake and animal performance (Koenig and Beauchemin, unpublished). In a subsequent study (Koenig and Beauchemin 2017), select CT (2.5% *Acacia* or *Quebracho*) and HT (2.5% chestnut) extracts were evaluated using cannulated beef heifers fed a finishing diet that included 20% distillers grains.

Feeding tannins to beef cattle fed high protein diets reduced ruminal ammonia N and plasma urea-N and shifted the route of N excretion from labile forms in urine to feces although there was a 4% decrease in DM digestibility.

In a meta-analysis (Jayanegara et al. 2012) of *in vitro* and *in vivo* studies with ruminants, CH₄ declined partially due to a decrease in digestion of fiber, when dietary tannins increased. However, most of those studies used tannin-containing forages rather than tannin extracts. In our research, we found that including quebracho CT extract at 2% of diet DM of beef cattle had no impact on CH₄ emissions (Beauchemin et al. 2007). However, in a recent study (Aboagye, Beauchemin and Koenig, unpublished) we fed a combination (50:50) of HT extract (chestnut) and CT extract (quebracho) at 1.5% of the diet and observed no effect on DMI or rate of gain, but there was a tendency for reduced (-6.4%, $P = 0.09$) CH₄ production compared with the control group. Thus, the effects of tannin extracts may depend on the type of tannin fed, the dose, and the basal diet.

In addition to beneficial effects of tannins on N utilization and possibly CH₄ reduction, tannins (especially HT) can elicit detrimental effects such as low palatability, decreased diet digestibility, and consequently reduced performance. Considerably more research is needed before tannin extracts can be recommended for beef cattle. Given the potential environments benefits of feeding tannins to ruminants, this is an area that requires additional effort.

Saponins

Saponins are natural detergents comprised of glycosylated steroids and triterpenoids with surface active properties and ammonia binding capacity. They inhibit ciliate protozoa *in vitro* and thus are thought to have potential for CH₄ mitigation because some methanogens are associated with protozoa. In addition, defaunation of the rumen decreases intra-ruminal microbial recycling, which would increase microbial protein supply to the

intestine. The most common saponin-containing extracts are from the desert plants *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria*.

We conducted an *in vitro* study to evaluate increasing doses of whole-plant powders from *Y. schidigera* and *Q. saponaria* (Holtshausen et al. 2009). Increasing levels of both saponin sources decreased CH₄ production, increased the proportion of propionate in the rumen fluid, but reduced 24-h digestibility of NDF compared with the CON treatment. To avoid potential negative effects on digestibility, we used a lower dose (10 g/kg of DM) of these two saponin sources in a subsequent dairy cow study (Holtshausen et al. 2009). Feeding saponins to dairy cows had no effect on rumen protozoa, rumen fermentation, digestibility or CH₄ production. Differences between these *in vitro* and *in vivo* studies could have been due to differences in the dosage of saponins used and the potential adaptation of the rumen microbiome *in vivo*. Bioactivity of saponins may be reduced *in vivo* because saponins are potentially degraded by saliva after prolonged feeding of saponin-rich feeds. Because very few feeding studies have been conducted with saponin extracts, they cannot be recommended at this time for beef cattle. Because of the potential environmental benefits of feeding saponins to ruminants (reduction of CH₄ and N excretion), this area of research warrants further investigation.

3-Nitrooxypropanol (NOP)

A number of CH₄ inhibitors have been identified, such as CH₄ analogues (chloroform and bromochloromethane) and methyl-coenzyme M reductase analogues (bromoethanesulfonate and NOP). To date, none of these inhibitors has been licensed for feeding commercially. Negative side effects of some of these inhibitors on safety of animals, people, and the environment, together with undesirable physicochemical properties of some compounds limit their use, with the exception of NOP.

NOP is a synthetic compound manufactured by DSM Nutritional Products that offers potential for the future. It binds to the active site of methyl-coenzyme M reductase and oxidizes the nickel

enzyme to inhibit methanogenesis (Duin et al. 2016). In studies with cattle fed backgrounding diets, NOP added to the ration lowered enteric CH₄ emissions by 33 to 59%, depending upon dose (Romero-Perez et al. 2014, 2015; Vyas et al. 2016). The CH₄ reduction was sustained over a long period (> 4 months), there were no effects on digestibility, and gain:feed ratio was improved by up to 8% (when no ionophore was added to the diets). With finishing cattle, Vyas et al. (2016) observed a 79% reduction in CH₄ production with no improvement in animal performance, indicating that a lower dose may need to be used in high grain diets.

A large-scale study with more than 15,000 cattle has been initiated at a feedlot in Alberta to measure effects of NOP on animal performance, CH₄ production, and carcass characteristics under commercial conditions. As NOP is degraded rapidly in the rumen to reaction products of 1,3 propandiol and very low concentrations of nitrate and nitrite. Hence, its safety risk is likely to be very low, and thus dietary supplementation of NOP is a promising strategy.

Nitrate

Feeding nitrate (max. 3% of the dietary DM) can reduce CH₄ emissions, while providing a source of non-protein N (Lee and Beauchemin 2014). Nitrate is reduced in the rumen to ammonia via nitrite as an intermediate. The reduction of nitrate competes with CH₄ formation for electrons, and thus nitrate reduction acts as a competitive hydrogen sink in the rumen. The challenge with nitrate feeding is that it can be toxic if high concentrations are fed or if animals are not adapted beforehand. If nitrate and nitrite accumulate in the rumen, they are absorbed into blood through the rumen wall. Nitrite in blood binds to red blood cells and changes the ferrous form of hemoglobin to the ferric form (methemoglobin), which is incapable of carrying oxygen. High levels of methemoglobin in blood (> 50%) will cause the animal to asphyxiate and die. To prevent toxicity, nitrate should be introduced gradually by increasing the dose over a 2-week adaptation period.

In a study with cattle receiving a 35:65 forage:concentrate diet containing 2.4% nitrate, CH₄ yield (g/kg DMI) was decreased by 29% (Newbold et al. 2014). In our research we used a commercial source of encapsulated nitrate (ECCO, GRASP Ind. & Com. LTDA, Paraná, Brazil; contains 0.83% nitrate) to slow the rate of availability of nitrate in the rumen and minimize the potential risks of toxicity. In a metabolism study with diets containing 55:45 forage:concentrate, we observed an 18% reduction in CH₄ yield with cattle fed 2.5% nitrate in an encapsulated form (Lee et al. 2015). In a longer term study, we observed a 6.2% reduction in CH₄ yield when feeding 2.25% nitrate in the encapsulated form compared with urea to backgrounded cattle with no effects on animal performance (Lee et al. 2017a). When 2% nitrate in the encapsulated form was included in finishing diets, there was no reduction in CH₄ yield but gain:feed increased by 11% (no ionophore in the diet; Lee et al. 2017b). In a subsequent unpublished feedlot study with 2% nitrate, we observed a 16% reduction in CH₄ yield in the backgrounding phase with no improvement in performance, and in the finishing phase 9% reduction in CH₄ yield with gain:feed improved by 13%. Similarly, Newbold et al. (2014) observed a linear increase in gain:feed with up to 2.4% nitrate to the diet of growing Nelore bulls fed a high concentrate diet. Nitrate slows the rate of intake, and it is possible that the nibbling pattern of intake improves rumen function and decreases SARA. In summary, adding nitrate to the diet of cattle fed higher forage diets lowers CH₄ production, while in high grain finishing diets effects on CH₄ are less pronounced, but gain:feed ratio may increase especially when monensin is not used.

CONCLUSIONS

Ionophores are the main feed additives used in beef cattle production. However, societal concerns about the use of in-feed antimicrobials and enteric CH₄ from ruminants has increased interest in developing new additives that act in concert with the rumen ecosystem to improve animal performance and lower CH₄

emissions. With the increasing market for beef raised without the therapeutic use of antimicrobials, there is a need for natural feed additives that can improve animal health and performance. Some feed additives that are currently available such as direct-fed microbials, yeast and essential oils potentially improve performance of beef cattle, but the optimum conditions for their use need to be better understood. Some new experimental feed additives show potential (nitrate, 3-nitrooxypropanol, tannins, saponins), but these require additional research. Beef producers will likely have a greater range of feed additives available in the future as research continues and new information is continually published in the scientific literature.

REFERENCES

- Arriola, K. G., A. S. Oliveira, Z. X. Ma, I. J. Lean, M. C. Giurcanu and A. T. Adesogan. 2017. A meta-analysis on the effect of dietary application of exogenous fibrolytic enzymes on the performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:4513-4527.
- Aschenbach, J. R. and G. Gäbel. 2000. Effect and absorption of histamine in sheep rumen: Significance of acidotic epithelial damage. *J. Anim. Sci.* 78:464-470.
- Beauchemin, K. A. and L. Holtshausen. 2010. Developments in Enzyme Usage in Ruminants. Pages 206-230 In: *Enzymes in Farm Animal Nutrition* (2nd Edition), M. R. Bedford, and G.G. Partridge (Eds.). CABI, Oxfordshire, UK.
- Beauchemin, K. A. and S. M. McGinn. 2006. Methane emissions from beef cattle: Effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. *J. Anim. Sci.* 84:1489-1496.
- Beauchemin, K. A., S. M. McGinn, T. F. Martinez and T. A. McAllister. 2007. Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 85:1990-1996.
- Beauchemin, K. A., T. A. McAllister and S. M. McGinn. 2009. Dietary mitigation of enteric methane from cattle. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources.* 4 (No. 035): 18 pp.
- Benchaar, C., S. Calsamiglia, A. V. Chaves, G. R. Fraser, D. Colombatto, T. A. McAllister and K. A. Beauchemin. 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:209-228.

- Castillo-Lopez, E., B. I. Wiese, S. Hendrick, J. J. McKinnon, T. A. McAllister, K. A. Beauchemin, and G. B. Penner. 2014. Incidence, prevalence, severity, and risk factors for ruminal acidosis in feedlot steers during backgrounding, diet transition, and finishing. *J. Anim. Sci.* 92:3053-3063.
- Chaucheyras-Durand, F., N. D. Walker and A. Bach. 2008. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:5-26.
- Cobellis, G., M. Trabalza-Marinucci and Z. Yu. 2016. Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. *Sci. Total Environ.* 545-546:556-568.
- DiLorenzo, N. and M. L. Galyean. 2010. Applying technology with newer feed ingredients in feedlot diets: Do the old paradigms apply? *J. Anim. Sci.* 88 (E Suppl.):E123-E132.
- Duffield, T. F., J. K. Merrill and R. N. Bagg. 2012. Meta-analysis of the effects of monensin in beef cattle on feed efficiency, body weight gain, and dry matter intake. *J. Anim. Sci.* 90:4583-4592.
- Duin, E. C., T. Wagner, S. Shima, D. Prakash, B. Cronin, D. R. Yáñez-Ruiz, S. Duval, R. Rumbeli, R. T. Stemmler, R. K. Thauer and M. Kindermann. 2016. Mode of action uncovered for the specific reduction of methane emissions from ruminants by the small molecule 3-nitrooxypropanol. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113:6127-6177.
- Durand-Chaucheyras, F., G. Fonty, G. Bertin, M. Theveniot and P. Gouet. 1998. Fate of Levucell® SC I-1077 yeast additive during digestive transit in lambs. *Reprod. Nutr. Dev.* 38:275-280.
- Erasmus L. J., R. F. Coertze, M. N. Leviton and E. Chevaux. 2009. A meta-analysis of the effect of monensin or live yeast or a combination thereof on performance of beef cattle. *J. Anim. Sci.* Vol. 87, E-Suppl. 2/J. Dairy Sci. Vol. 92, E-Suppl. 1 281 (Abstr. 270).
- Fandiño, I., S. Calsamiglia, A. Ferret and M. Blanch. 2008. Anise and capsicum as alternatives to monensin to modify rumen fermentation in beef heifers fed a high concentrate diet. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:409-417.
- Feye, K. M., K. L. Anderson, M. F. Scott, D. L. Henry, K. L. Dorton, B. E. Dejenbusch and S. A. Carlson. 2016. Abrogation of Salmonella and E. coli O157:H7 in feedlot cattle fed a proprietary *Saccharomyces cerevisiae* fermentation prototype. *J. Vet. Sci. Technol.* 7(4):1000350.

- Harmon, D. L., R. A. Britton, R. L. Prior and R. A. Stock. 1985. Net portal absorption of lactate and volatile fatty acids in steers experiencing glucose-induced acidosis or fed a 70% concentrate diet ad libitum. *J. Anim. Sci.* 60:560-569.
- Hristov, A. N., J. Oh, J. L. Firkins, J. Dijkstra, E. Kebreab, G. Waghorn, H. P. S. Makkar, A. Adesogan, W. Yang, , C. Lee, P. J. Gerber, B. Henderson and J. M. Tricarico. 2013. Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. *J. Anim. Sci.* 91:5045-5069.
- Holtshausen, L., A. V. Chaves, K. A. Beauchemin, S. M. McGinn, T. A. McAllister, N. E. Odongo, P. R. Cheeke, and C. Benchaar. 2009. Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92:2809-2821.
- Jayanegara, A., F. Leiber, and M. Kreuzer. 2012. Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from in vivo and in vitro experiments. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 96:365–375.
- Jiao, P. X., L. Y. Wei, N. D. Walker, F. Z. Liu, L. Y. Chen, K. A. Beauchemin and W. Z. Yang. 2017. Comparison of non-encapsulated and encapsulated active dried yeast on ruminal pH and fermentation, and site and extent of feed digestion in beef heifers fed high-grain diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 228:13-22.
- Knapp, J. R., G. L. Laur, P. A. Vadas, W. P. Weiss and J. M. Tricarico. 2014. Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. *J. Dairy Sci.* 97:3231-3261.
- Koenig, K. M. and K. A. Beauchemin. 2017. Feeding tannins to reduce nitrogen losses from feedlot cattle fed high protein diets containing wheat distillers grains: Ruminal fermentation, digestibility, and route of nitrogen excretion. *J. Anim. Sci. (Suppl.)* 95:278-279 (Abstr. 569).
- Kung, L. Jr., E. M. Kreck, R. S. Tung, A. O. Hession, A. C. Shepperd, M. A. Cohen, H. E. Swain and J. A. Z. Leedle. 1997. Effects of a live yeast culture and enzymes on in vitro ruminal fermentation and milk production of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:2045-2051.
- Lascano, G. J. and A. J. Heinrichs. 2007. Yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation in growing animals in the dairy industry. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 2, No. 049.

- Lee, C. and K. A. Beauchemin. 2014. A review of feeding supplementary nitrate to ruminant animals: nitrate toxicity, methane emissions, and production performance. *Can J. Anim. Sci.* 94:557-570.
- Lee, C., R. C. Araujo, K. M. Koenig, and K. A. Beauchemin. 2015. Effects of encapsulated nitrate on enteric methane production and nitrogen and energy utilization in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 93:2391-2404.
- Lee, C., R. C. Araujo, K. M. Koenig and K. A. Beauchemin. 2017a. Effects of encapsulated nitrate on growth performance, nitrate toxicity, and enteric methane emissions in beef steers: Backgrounding phase. *J. Anim. Sci.* 95:3700-3711.
- Lee, C., R. C. Araujo, K. M. Koenig and K. A. Beauchemin. 2017b. Effects of encapsulated nitrate on growth performance, carcass characteristics, nitrate residues in tissues, and enteric methane emissions in beef steers: Finishing phase. *J. Anim. Sci.* 95:3712-3726.
- López, S., F. D. DeB Hovell and N. A. MacLeod. 1994. Osmotic pressure, water kinetics and volatile fatty acid absorption in the rumen of sheep sustained by intragastric infusions. *Br. J. Nutr.* 71:153-168.
- McAllister, T. A., K. A. Beauchemin, A. Y. Alazzez, J. Baah, R. M. Teather and K. Stanford. 2011. Review: The use of direct fed microbials to mitigate pathogens and enhance production in cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 91:193-211.
- Meale, S. J., K. A. Beauchemin, A. N. Hristov, A. V. Chaves and T. A. McAllister. 2014. Board-Invited Review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve ruminant production. *J. Anim. Sci.* 92:427-442.
- Mohammed, R., D. Vyas, W. Z. Yang and K. A. Beauchemin. 2017. Changes in the relative population size of selected ruminal bacteria following an induced episode of acidosis in beef heifers receiving viable and non-viable active dried yeast. *J. Appl. Microbiol.* 122:1483-1496.
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (NASEM). 2016. *Nutrient Requirements of Beef Cattle, Eighth Revised Edition*. Washington, DC: The National Academies Press.
- Newbold, J. R., S. M. van Zijderveld, R. B. A. Hulshof, W. B. Fokkink, R. A. Leng, P. Terencio, W. J. Powers, P. S. J. van Adrichem, N. D. Paton and H. B. Perdok. 2014. The effect of incremental levels of dietary nitrate on methane emissions in Holstein steers and performance in Nelore bulls. *J. Anim. Sci.* 2014.92:5032–5040.

- Oliveira, C. A. and D. D. Millen. 2014. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. *Anim. Feed Sci. Technol.* 197:64-75.
- Romero-Perez, A., E. K. Okine, S. M. McGinn, L. L. Guan, M. Oba, S. M. Duval, M. Kindermann and K. A. Beauchemin. 2014. The potential of 3-nitrooxypropanol to lower enteric methane emissions from beef cattle. *J. Anim. Sci.* 92:4682-4693.
- Romero-Perez, A., E. K. Okine, S. M. McGinn, L. L. Guan, M. Oba, S. M. Duval, M. Kindermann and K. A. Beauchemin. 2015. Sustained reduction in methane production from long-term addition of 3-nitrooxypropanol to a beef cattle diet. *J. Anim. Sci.* 93:1780-1791.
- Sartori, E. D., M. E. Andrighetto Canozzi, D. Zago, Ê. R. Prates, J. P. Velho and J. O. Jardim Barcellos. 2017. The effect of live yeast supplementation on beef cattle performance: A systematic review and meta-analysis. *J. Agric. Sci.* 9:21-37.
- Schelling, G. T. 1984. Monensin mode of action in the rumen. *J. Anim. Sci.* 58:1518-1527.
- Scott, M. F., K. L. Dorton, D. L. Henry, C. R. Belknap, D. L. Hanson, and B. E. Depenbusch. 2017. Effects of feeding a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation prototype on performance, carcass characteristics, and liver abscess prevalence of beef heifers at a commercial feedlot. *Prof. Anim. Sci.* 33:320–326.
- Steele, M. A., O. AlZahal, S. E. Hook, J. Croom and B. W. McBride. 2009. Ruminal acidosis and the rapid onset of ruminal parakeratosis in a mature dairy cow: a case report. *Acta Vet. Scan.* 51:39.
- Tomkins, N. W., S. E. Denman, R. Pilajun, M. Wanapat, C. S. McSweeney, R. Elliott. 2015. Manipulating rumen fermentation and methanogenesis using an essential oil and monensin in beef cattle fed a tropical grass hay. *Anim. Feed Sci. Technol.* 200:25-34.
- Vakili, A. R., B. Khorrami, M. Danesh Mesgaran and E. Parand. 2013. The effects of thyme and cinnamon essential oils on performance, rumen fermentation and blood metabolites in Holstein calves consuming high concentrate diet. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 26:935-944.
- Vyas, D., E. J. McGeough, , S. M. McGinn, , T. A. McAllister, and K. A. Beauchemin, 2014a. Effect of *Propionibacterium* spp. on ruminal fermentation, nutrient digestibility, and methane emissions in beef heifers fed a high-forage diet. *J. Anim. Sci.* 92:2192-2201.

- Vyas, D., E. J. McGeough, R. Mohammed, S. M. McGinn, T. A. McAllister and K. A. Beauchemin, 2014b. Effects of *Propionibacterium* strains on ruminal fermentation, nutrient digestibility and methane emissions in beef cattle fed a corn grain finishing diet. *Animal* 11:1807-1815.
- Vyas, D., S. M. McGinn, S. M. Duval, M. Kindermann and K. A. Beauchemin. 2016. Effects of sustained reduction of enteric methane emissions with dietary supplementation of 3-nitrooxypropanol on growth performance of growing and finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 94:2024-2034.
- Warner, A. C. I. and B. D. Stacy. 1977. Influence of ruminal and plasma osmotic pressure on salivary secretion in sheep. *Quart. J. Expt. Physiol.* 62:133-142.
- Wiese, B. I., S. Hendrick, J. G. Campbell, J. J. McKinnon, K. A. Beauchemin, T. A. McAllister and G. B. Penner. 2017. Defining risk for low reticuloruminal pH during the diet transition period in a commercial feedlot in western Canada. *J. Anim. Sci.* 95:420-435.
- Yang, W. Z., B. N. Ametaj, C. Benchaar, M. L. He and K. A. Beauchemin. 2010a. Cinnamaldehyde in feedlot cattle diets: Intake, growth performance, carcass characteristics, and blood metabolites. *J. Anim. Sci.* 88:1082-1092.
- Yang, W. Z., B. N. Ametaj, C. Benchaar and K. A. Beauchemin. 2010b. Dose response to cinnamaldehyde supplementation in growing beef heifers: Ruminal and intestinal digestion. *J. Anim. Sci.* 88:680-688.
- Yang, W. Z., C. Benchaar, B. N. Ametaj and K. A. Beauchemin. 2010c. Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle: Ruminal fermentation and intestinal digestion. *Anim. Feed Sci. Technol.* 158:57-64.

METABOLIC AND PHYSIOLOGICAL MECHANISMS RESPONSIBLE FOR VARIATION IN FEED EFFICIENCY

A. P. Foote

USDA, ARS, US Meat Animal Research Center, Clay Center, NE

INTRODUCTION

There has been an increase in the number of experiments in the past few years that explore the underlying mechanisms involved in feed efficiency of beef cattle. This is a byproduct of the need to improve feed efficiency to increase the sustainability of beef production and improve the economic situation of cattle production. In the United States beef cattle industry, feed costs account of approximately 55 to 75% of total production costs (Trenkle and Willham, 1977; Moore et al., 2009; Ahola and Hill, 2012). Improvements in the conversion of consumed nutrient to usable product (e.g. muscle, milk) along with continued improvements in growth rates is key to improving the environmental and economic impact of beef cattle production.

Feed efficiency can be defined in many ways. A simple and basic definition is the ratio of inputs and outputs such as Feed:Gain or Gain:Feed (G:F). The ratio of G:F is the preferable ratio so that it can be defined in situations where body weight is maintained or lost. G:F is highly correlated to average daily body weight gain (ADG) (Foote et al., 2014), so it is assumed that if a favorable G:F is selected for, a concomitant increase in ADG would also be observed. An increase in ADG would likely be associated with an increased mature body size, which is less than ideal. Koch et al. (1963) presented the concept of two measures of feed efficiency, which include residual gain and residual feed intake (RFI). The authors identified residual gain as being the ideal measure of feed efficiency, yet RFI has become the more popular measure of feed efficiency in beef cattle. RFI is essentially the difference in expected feed intake for an animal (based on body weight and growth rate)

and the observed feed intake. A negative (or low) RFI is considered ideal and represents an efficient animal while positive (or high) RFI is inefficient. RFI is uncorrelated to ADG and is mainly driven by feed intake. Residual gain can be thought of as the opposite of RFI and is defined as the difference in expected ADG (based on body size and feed intake) and the actual ADG. Residual gain is highly correlated to ADG but not DMI. It is likely that there is no single best measure of feed efficiency because different production settings may call for different levels of either DMI or ADG. For instance, in production settings where the available forage is of poor quality, it may be necessary to select animals that have a greater potential for DMI, so that they can consume enough forage to meet their nutrient requirements. This may not be the best situation to select for cattle with low (negative) RFI. The more ideal approach is to understand the underlying biology of the regulation of growth and feed intake. These component traits could be used in an index that includes other factors such as economic factors to select for an ideal feed efficiency phenotype.

The need to understand the underlying biological mechanisms that contribute to variation in feed efficiency is multifaceted. First, measuring feed efficiency on individual animals is difficult and expensive. In order to find genetic components that contribute to feed efficiency, data on extremely large numbers of animals is necessary. Labor and equipment costs limit the ability to conduct this kind of experiment. Understanding the biology could allow for alternative measures of production traits and expedite the genetic evaluation of feed efficiency. Secondly, it is important to have a thorough understanding of the traits that are being selected for. This has been previously observed in extreme selection of fast growing cattle that leads to increased mature body size, therefore greatly increasing the maintenance costs of the cow herd. If producers make selection decisions using an index or calculated value, it may not be clear what effect this has on the physiology of the animals. Therefore, it is important to understand the underlying physiological mechanisms that contribute to feed efficiency. The

purpose of this paper is to present the current understanding of the role that metabolism and other physiological factors contribute to feed intake and growth of beef cattle.

METABOLIC MECHANISMS

Differences between animals in metabolism of nutrients is a logical mechanism to explore for differences in efficiency of nutrient utilization. However, the process of determining causal effects of metabolic differences between animals is less than straightforward. A number of studies have reported correlations between circulating metabolite concentrations and production traits or differences between various classes of feed efficiency groups. Few studies have delved deeper into metabolic mechanisms that could control feed intake and growth and therefore contribute to feed efficiency of beef cattle. This is essentially a new area of investigation in many senses. By looking at the correlations of metabolite concentrations with production traits, investigators can glean areas of metabolism that require more in-depth study.

Glucose is one of the most commonly measured metabolites in feed efficiency experiments and is an important energy substrate for growing tissues. Table 1 presents published correlations of glucose concentrations with production traits and feed efficiency measures. It is somewhat striking how consistent the correlation of blood glucose and DMI is across experiments, which consist of differing numbers of animals, breeds, sexes, diets, and likely many other confounding factors. These data likely indicate that glucose metabolism could be involved in the regulation of feed intake of beef cattle. Several factors could be related to this, such as the interrelationship of glucose and insulin as well as other hormonal factors. Kelly et al. (2011) reported a negative correlation of insulin concentration measured at the end of an experiment with RFI but not DMI. This is in contrast to a report of a small study utilizing steers which showed a positive correlation of insulin and RFI (Richardson et al., 2004). A more thorough examination of glucose metabolism differences in cattle with high and low RFI showed no

effect of RFI classification on the insulin response to a glucose tolerance test (Fitzsimons et al., 2014). While an indirect approach, Foote et al. (2017b) showed that several genes related to glucose absorption and metabolism in the jejunum of steers with average DMI and divergent ADG were increased in the high ADG group. These include *maltose-glucoamylase*, *hexokinase*, *GLUT2*, and *PEPCK*. This appears to be an area that requires more indepth research.

Table 1 - Published correlations of blood glucose concentrations and dry matter intake (DMI), average daily gain (ADG), and residual feed intake (RFI)

Experiment	DMI	ADG	RFI
Foote et al., 2014	-0.23	-0.12	n.d.
Foote et al., 2016b	-0.24	-0.26	-0.06 (n.s.)
Richardson, et al., 2004	-0.25 (n.s.)	0.04 (n.s.)	-0.13 (n.s.)
Kelly et al., 2010	-0.07 (n.s.)	0.17 (n.s.)	-0.04 (n.s.)
Kelly et al., 2011	-0.21 ^A	-0.14 ^B	0.06 (n.s.)
Santana et al., 2013	n.d.	n.d.	0.10 (n.s.)
Bourgon et al., 2017	-0.17 (n.s.)	-0.26 (n.s.)	0.19 (n.s.)

n.s. – not statically significant.

n.d. – not determined.

^AMeasured at the end of the experiment.

^BMeasured at the start of the experiment.

In addition to the experiments involving insulin mentioned above, other studies have explored the relationship between metabolic hormones (i.e. cortisol, thyroid hormones, leptin, insulin-like growth factor 1 [IGF-1]). Leptin is also involved in appetite regulation and will be discussed in more detail below. Bourgon et al. (2017) reported a positive correlation of T4 with ADG, but not DMI or RFI. Additionally, no association was found for IGF-1 and production traits (Bourgon et al., 2017). Kelly et al. (2011) reported a negative correlation of IGF-1 and DMI and feed:gain when IGF-1 was measured at the end of the test.

Cortisol is an interesting hormone, in that it has large effects on metabolism, yet is more commonly used as an indicator of stress. Some research has been conducted to measure other metabolites of glucocorticoids that may be a better indicator of stress than a single measure of cortisol (discussed below). Bourgon et al. (2017) reported no correlations between cortisol concentrations and production traits. We have shown that cortisol measured prior to weaning calves is positively associated with both preweaning ADG and ADG during the first 45 days in the feedlot (Foote et al., 2017a). In another experiment, we reported a negative correlation of cortisol with ADG and G:F, as well as a positive correlation with RFI (Foote et al., 2016b). The conflicting results of these two studies in regard to ADG, could be due to differences in age of the cattle and the timing of measuring cortisol.

It is apparent that the metabolic control of feed intake, growth, and feed efficiency of beef cattle is not well understood and inconsistent across stages of production, sexes, and production settings. More research is needed utilizing more in-depth metabolic profiling and intensive sampling regimens to provide a greater understanding of alterations in metabolism and the effect of those alterations on feed efficiency.

APPETITE REGULATION

Regulation of ad libitum fed cattle is a complex concept. The general understanding is that gut fill, specifically rumen fill, is the main determinator of feed intake when the diet is predominantly forage. In cattle fed a grain diet in confinement, the regulation is likely determined more by metabolic and hormonal factors. However, associations of appetite regulating hormones in concentrate and forage fed cattle is interesting and these data could lead to further understanding of ruminant physiology.

Ghrelin

Ghrelin is a peptide hormone produced mainly in the monogastric stomach and the abomasum of cattle (Kojima et al., 1999; Hayashida et al., 2001). Ghrelin is a unique hormone due to the addition of octanoyl group on the serine-3 residue, which is necessary to bind the only known receptor of ghrelin, growth hormone secretagogue receptor (GHSR1a) (Kojima and Kangawa, 2002). The acylated form of ghrelin is commonly referred to as acyl-ghrelin or active ghrelin. It is generally thought that the acyl group must be present to signal an increase in appetite. The non-acylated form of ghrelin, referred to as des-acyl ghrelin, usually circulates at greater concentrations than acyl ghrelin, but the functions are unknown (Hosoda et al., 2000; ThidarMyint et al., 2006). Extensive work has been conducted to describe the basic biology of ghrelin in beef cattle (Wertz-Lutz et al., 2006; Wertz-Lutz et al., 2008; Wertz-Lutz et al., 2010) and readers are referred to those publications for more details.

Because ghrelin is involved with signaling appetite in cattle, it was originally hypothesized that circulating ghrelin concentrations could be a useful indicator of feed intake, and potentially feed efficiency, in finishing beef cattle. One experiment measured acyl and total ghrelin after the completion of a feed intake and growth measurement period with steers and heifers sired by Angus, Charolais, Gelbvieh, and Limousin bulls (Foote et al., 2014). Acyl ghrelin was shown to be positively associated with DMI and explained about 2% of the variation of DMI. Total ghrelin was not associated with DMI, but was negatively associated with ADG and G:F, explaining about 2.5% of the total variation in G:F. While this experiment was not sufficiently powered to determine breed effects, a difference in active ghrelin concentrations were noted between the different sire breeds. However, total ghrelin concentrations were not different between the breeds, which could indicate some genetic differences in the physiology of ghrelin activation/deactivation. An additional experiment was conducted to determine the differences in ghrelin at the beginning and end of DMI and growth measurement

period (Foote et al., 2016a). Acyl ghrelin was greater in steers on day 0 than heifers, and by day 83 concentrations were similar between sexes. Total ghrelin was greater in steers than heifers on day 0 and did not change over time, but concentrations in heifers increased to similar levels as steers by day 83. Day 0 acyl ghrelin was again positively associated with DMI and explained approximately 1% of the variation in DMI, independent of sex, breed, and sire effects.

These few studies evaluating the association of ghrelin with production traits indicate there are some potential differences in cattle with differing feed intake and efficiencies. More research utilizing serial blood collections and possibly more diet types are needed to further characterize the role of ghrelin in feed intake regulation.

Leptin

Leptin is a hormone that is commonly considered a satiety signal, but also has effects on metabolism and has been used as an indicator of body composition and carcass quality (Houseknecht et al., 1998; Ingvarsen and Boisclair, 2001; Geary et al., 2003; Brandt et al., 2007). Given the association of leptin with fat deposition and appetite regulation, it is a prime candidate as a biological marker for feed efficiency. Bourgon et al. (2017) reported no association of leptin concentrations with production traits. Another study reported a positive correlation of leptin at the start of the study with feed:gain and end of the test leptin concentrations were positively correlated to DMI and feed:gain (Kelly et al., 2011). A study using growing heifers showed a positive correlation of leptin concentrations with DMI and feed:gain (Kelly et al., 2010). Multi-year study with finishing steers reported a positive correlation as well as a positive association in a multiple regression model for leptin and DMI (Foote et al., 2015). Additionally, this same study showed that a single leptin measurement explains about 2.6% of the variation of ADG, 7.9% of the variation of G:F, and 1.2% of the variation of RFI. In a followup study, up to 10.5% of the variation of

DMI was explained by a single leptin concentration (Foote et al., 2016c). An interesting finding is that in all of these studies, there is a positive relationship with DMI and leptin, which translate into greater leptin equates to greater DMI. This is somewhat counterintuitive when you consider leptin is a satiety signal. It has been hypothesized previously (Foote et al., 2015; Foote et al., 2016c) that cattle fed high concentrate diets may actually become leptin resistant. Additionally, there appears to be a significant genetic association with leptin biology that could contribute to some of the inconsistencies across experiments.

IMMUNE FUNCTION AND STRESS

The overall health and welfare of cattle is obviously essential for efficient growth and production of beef cattle. Additionally, there is a growing body of literature in many species that subclinical conditions such as chronic stress and inflammation can have negative consequences on growth and production efficiency. The current research related to health status and feed efficiency has ranged from correlating blood parameters to feed efficiency and production traits to analyzing gene expression in specific tissues as a measure of immune function and inflammatory responses. Additionally, chronic stress can have associations with development of diseases and general poor performing cattle.

Measures of chronic stress that have been utilized in feed efficiency research to date utilize fecal cortisol metabolites (11, 17-dioxoandrostanes; DOA) or fecal concentrations of another glucocorticoid (corticosterone). Two studies that measured fecal DOA showed that more efficient cattle, as measured by low-RFI, had greater fecal DOA concentrations (Montanholi et al., 2010; Montanholi et al., 2013). The authors explain this as potentially a product of the anabolic nature of cortisol or potentially indicative of behavior differences between high and low RFI cattle. In contrast, our study showed that heifers had a positive relationship between corticosterone and RFI while steers had no association between corticosterone and RFI (Foote et al., 2016b). This study also

showed a slight positive association of fecal corticosterone with DMI. These studies, in addition to other literature, led the authors of Foote et al. (2016b) to conclude the nature of a stress response may be more important for feed efficiency of feedlot cattle than basal stress animal experience.

The most common measure of overall health status of animals is blood cell counts. Several studies have reported the association of blood cell counts with production traits in a variety of environments and production settings, yet this is not extensively studied. Studies with Nelore bulls and steers showed no association of blood cell counts with RFI (Gomes et al., 2011; Santana et al., 2013). One of the few other studies to explore blood cell counts and feed efficiency used steer progeny from sires selected to have high or low estimated breeding value for RFI (Richardson et al., 2002). This study indicated total white blood cell count and lymphocyte count were negatively associated with sire estimated breeding value for RFI. Foote et al. (2016b) showed no association of blood cell counts with RFI. However, it was shown that total white blood cell count and lymphocyte count were correlated with DMI, ADG, and G:F. Several of these findings appear to depend on the sex of the animal, but could indicate these are important measures for determining the role of overall health with growth and efficiency.

An interesting approach that has recently been used is to use gene expression to analyze tissue-specific immune function and inflammatory status. One study measured the expression of a panel of 84 genes in the rumen and jejunum of cattle with average DMI and high and low ADG (Reynolds et al., 2017). Interestingly, none of the genes were differentially expressed in the jejunum of these steers, and 9 genes were either significantly or tended to be expressed at a greater level low ADG group of steers. These genes included several chemokine-related genes, *interleukin 1 alpha*, and others. These results lead to the conclusion that the low ADG steers may have a greater amount of inflammation in the rumen epithelium than the high ADG steers. This study was followed up with an

RNA-sequencing analysis of the jejunum from these same cattle, which agreed with the panel results, where very few genes related to inflammation or immune function were differentially expressed between the high and low ADG cattle (Foote et al., 2017b).

Another approach utilized recently to explore immune function and feed efficiency is to analyze gene expression in white blood cells. A study was conducted using cattle with average DMI and high and low ADG and the panel of 84 genes (Lindholm-Perry et al., 2017). In contrast to the rumen epithelium data, these data indicated a greater expression level of 9 genes related to immune function and inflammation in the cattle with greater ADG. This could indicate a differential response depending on specific tissues.

Taken together, it is obvious that health status, inflammation, and stress are important for efficient production of beef cattle. It is also apparent that researchers are just now starting to unravel the extensive complexities of immune function and how it relates to growth and nutrient utilization.

DIET DIGESTIBILITY AND NUTRIENT ABSORPTION

The amount of nutrients that can be digested from a diet will partially dictate the growth potential of animals consuming the diet. A few studies have explored the variation in diet digestibility on growth and feed efficiency using a variety of methodologies. Most of these studies have looked at the association of total tract dry matter (DM) digestibility with RFI. Results from these studies have been mixed, with most showing no difference between RFI classification groups (Richardson et al., 2004; Cruz et al., 2010; Fitzsimons et al., 2013). In contrast, Richardson et al. (1996) showed a 1% unit greater digestibility in the more efficient group and Nkrumah et al. (2006) reported a negative correlation with DM and crude protein digestibility and RFI, indicating more efficient animals had slightly better total tract digestibility. One of the main limitations of these studies is that they measure digestibility on a subset of animals, or alter the natural feed intake of the animals, which can greatly alter digestibility. Another study showed very little of the variation in BW growth of feedlot steers

was accounted for by DM digestibility (Davis et al., 2014). The steers in this study were fed a typical finishing diet that was high in concentrate, which is highly digestible. It is possible that digestibility may play a larger role in the variation in growth and efficiency of cattle consuming a forage-based diet, such as developing heifers, but this has not been extensively studied.

CONCLUSIONS

It is apparent that metabolism and other physiological factors could have significant effects on the efficiency of nutrient utilization in beef cattle. Areas that show great promise for future research include glucose metabolism, appetite regulation, and tissue-level immune function and inflammation. It is also striking how inconsistent the associations of metabolites and other blood parameters are with production traits in the literature. This may not be too surprising when the large variation of cattle breeds, production setting, production practices, lab techniques, environments, and many other factors are considered. Additionally, many of these studies are essentially preliminary in nature and take a simplistic approach to find association of what factors may be contributing to feed efficiency. Given the inconsistencies and variation that exists in the literature, it is even more interesting when commonalities are found, such as glucose metabolism. It is likely that further research utilizing more in-depth profiling of physiological factors will lead to more consistent results.

REFERENCES

- Ahola, J. K., and R. A. Hill. 2012. Input factors affecting profitability: A changing paradigm and a challenging time. In: R. A. Hill (ed.) *Feed efficiency in the beef industry* p7-19. John Wiley & Sons, Inc., Ames, IA.
- Bourgon, S. L., M. Diel de Amorim, S. P. Miller, and Y. R. Montanholi. 2017. Associations of blood parameters with age, feed efficiency and sampling routine in young beef bulls. *Livestock Science* 195: 27-37.

- Brandt, M. M., D. H. Keisler, D. L. Meyer, T. B. Schmidt, and E. P. Berg. 2007. Serum hormone concentrations relative to carcass composition of a random allotment of commercial-fed beef cattle. *J. Anim. Sci.* 85: 267-275.
- Cruz, G. D., J. A. Rodríguez-Sánchez, J. W. Oltjen, and R. D. Sainz. 2010. Performance, residual feed intake, digestibility, carcass traits, and profitability of Angus-Hereford steers housed in individual or group pens. *J. Anim. Sci.* 88: 324-329.
- Davis, M. P., H. C. Freetly, L. A. Kuehn, and J. E. Wells. 2014. Influence of dry matter intake, dry matter digestibility, and feeding behavior on body weight gain of beef steers. *J. Anim. Sci.* 92: 3018-3025.
- Fitzsimons, C., D. A. Kenny, M. H. Deighton, A. G. Fahey, and M. McGee. 2013. Methane emissions, body composition, and rumen fermentation traits of beef heifers differing in residual feed intake. *J. Anim. Sci.* 91: 5789-5800.
- Fitzsimons, C., D. A. Kenny, S. M. Waters, B. Earley, and M. McGee. 2014. Effects of phenotypic residual feed intake on response to a glucose tolerance test and gene expression in the insulin signaling pathway in longissimus dorsi in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 92: 4616-4631.
- Foote, A. P., K. E. Hales, and H. C. Freetly. 2016a. Changes in acyl and total ghrelin concentrations and their association with dry matter intake, average daily gain, and feed efficiency of finishing beef steers and heifers. *Dom. Anim. Endocrinol.* 57: 100-107.
- Foote, A. P., K. E. Hales, L. A. Kuehn, D. H. Keisler, D. A. King, S. D. Shackelford, T. L. Wheeler, and H. C. Freetly. 2015. Relationship of leptin concentrations with feed intake, growth, and efficiency in finishing beef steers. *J. Anim. Sci.* 93: 4401-4407.
- Foote, A. P., K. E. Hales, C. A. Lents, and H. C. Freetly. 2014. Association of circulating active and total ghrelin concentrations with dry matter intake, growth, and carcass characteristics of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 92: 5651-5658.
- Foote, A. P., K. E. Hales, R. G. Tait Jr, E. D. Berry, C. A. W. Lents, J. E., A. K. Lindholm-Perry, and H. C. Freetly. 2016b. Relationship of glucocorticoids and hematological measures with feed intake, growth, and efficiency of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 94: 275-283.

- Foote, A. P., S. A. Jones, and L. A. Kuehn. 2017a. Association of pre-weaning and weaning serum cortisol and metabolites with ADG and incidence of respiratory disease in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 95: 5012-5019.
- Foote, A. P., B. N. Keel, C. M. Zarek, and A. K. Lindholm-Perry. 2017b. Beef steers with average dry matter intake and divergent average daily gain have altered gene expression in the jejunum. *J. Anim. Sci.* 95: 4430-4439.
- Foote, A. P., R. G. Tait Jr, D. H. Keisler, K. E. Hales, and H. C. Freetly. 2016c. Leptin concentrations in finishing beef steers and heifers and their association with dry matter intake, average daily gain, feed efficiency, and body composition. *Dom. Anim. Endocrinol.* 55: 136-141.
- Geary, T. W., E. L. McFadin, M. D. MacNeil, E. E. Grings, R. E. Short, R. N. Funston, and D. H. Keisler. 2003. Leptin as a predictor of carcass composition in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 81: 1-8.
- Gomes, R. d. C., R. F. d. Siqueira, M. A. Ballou, T. R. Stella, and P. R. Leme. 2011. Hematological profile of beef cattle with divergent residual feed intake, following feed deprivation. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 46: 1105-1111.
- Hayashida, T., K. Murakami, K. Mogi, M. Nishihara, M. Nakazato, M. S. Mondal, Y. Horii, M. Kojima, K. Kangawa, and N. Murakami. 2001. Ghrelin in domestic animals: Distribution in stomach and its possible role. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21: 17-24.
- Hosoda, H., M. Kojima, H. Matsuo, and K. Kangawa. 2000. Ghrelin and des-acyl ghrelin: Two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 279: 909-913.
- Houseknecht, K. L., C. A. Baile, R. L. Matteri, and M. E. Spurlock. 1998. The biology of leptin: A review. *J. Anim. Sci.* 76: 1405-1420.
- Ingvartsen, K. L., and Y. R. Boisclair. 2001. Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants. *Domest. Anim. Endocrinol.* 21: 215-250.
- Kelly, A. K., M. McGee, D. H. Crews, A. G. Fahey, A. R. Wylie, and D. A. Kenny. 2010. Effect of divergence in residual feed intake on feeding behavior, blood metabolic variables, and body composition traits in growing beef heifers. *J. Anim. Sci.* 88: 109-123.

- Kelly, A. K., M. McGee, D. H. Crews Jr, C. O. Lynch, A. R. Wylie, R. D. Evans, and D. A. Kenny. 2011. Relationship between body measurements, metabolic hormones, metabolites and residual feed intake in performancetested pedigree beef bulls. *Livest. Sci.* 135: 8-16.
- Koch, R. M., L. A. Swiger, D. Chambers, and K. E. Gregory. 1963. Efficiency of feed use in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 22: 486-494.
- Kojima, M., H. Hosoda, Y. Date, M. Nakazato, H. Matsuo, and K. Kangawa. 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402: 656-660.
- Kojima, M., and K. Kangawa. 2002. Ghrelin, an orexigenic signaling molecule from the gastrointestinal tract. *Curr. Opin. Pharmacol.* 2: 665-668.
- Lindholm-Perry, A. K., V. M. Artegoitia, J. R. Miles, and A. P. Foote. 2017. Expression of cytokine genes and receptors in white blood cells associated with divergent body weight gain in beef steers. *Agri Gene* 6: 37-39.
- Montanholi, Y. R., R. Palme, L. S. Haas, K. C. Swanson, G. Vander Voort, and S. P. Miller. 2013. On the relationships between glucocorticoids and feed efficiency in beef cattle. *Livest. Sci.* 155: 130-136.
- Montanholi, Y. R., K. C. Swanson, R. Palme, F. S. Schenkel, B. W. McBride, D. Lu, and S. P. Miller. 2010. Assessing feed efficiency in beef steers through feeding behavior, infrared thermography and glucocorticoids. *Animal* 4: 692-701.
- Moore, S. S., F. D. Mujibi, and E. L. Sherman. 2009. Molecular basis for residual feed intake in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 87: E41-E47.
- Nkrumah, J. D., E. K. Okine, G. W. Mathison, K. Schmid, C. Li, J. A. Basarab, M. A. Price, Z. Wang, and S. S. Moore. 2006. Relationships of feedlot feed efficiency, performance, and feeding behavior with metabolic rate, methane production, and energy partitioning in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 84: 145-153.
- Reynolds, J. G., A. P. Foote, H. C. Freetly, W. T. Oliver, and A. K. Lindholm-Perry. 2017. Relationships between inflammation- and immunity-related transcript abundance in the rumen and jejunum of beef steers with divergent average daily gain. *Anim. Genet.* 48: 447-449.
- Richardson, E., R. Herd, P. Arthur, J. Wright, G. Xu, K. Dibley, and V. Oddy. 1996. Possible physiological indicators for net feed conversion efficiency in beef cattle. In: *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.* p 103-106.

- Richardson, E. C., R. M. Herd, J. A. Archer, and P. F. Arthur. 2004. Metabolic differences in angus steers divergently selected for residual feed intake. *Aust. J. Exp. Agric.* 44: 441-452.
- Richardson, E. C., R. M. Herd, I. G. Colditz, J. A. Archer, and P. F. Arthur. 2002. Blood cell profiles of steer progeny from parents selected for and against residual feed intake. *Aust. J. Exp. Agric.* 42: 901-908.
- Santana, M. H. d. A., P. Rossi Jr., R. d. Almeida, and A. M. d. S. Schuntzemberger. 2013. Blood cell and metabolic profile of nellore bulls and their correlations with residual feed intake and feed conversion ratio. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.* 14: 527-537.
- ThidarMyint, H., H. Yoshida, T. Ito, and H. Kuwayama. 2006. Dose-dependent response of plasma ghrelin and growth hormone concentrations to bovine ghrelin in Holstein heifers. *J. Endocrinol.* 189: 655-664.
- Trenkle, A., and R. L. Willham. 1977. Beef production efficiency. *Science* 198: 1009-1015.
- Wertz-Lutz, A. E., J. A. Daniel, J. A. Clapper, A. Trenkle, and D. C. Beitz. 2008. Prolonged, moderate nutrient restriction in beef cattle results in persistently elevated circulating ghrelin concentrations. *J. Anim. Sci.* 86: 564-575.
- Wertz-Lutz, A. E., J. S. Jennings, and J. A. Clapper. 2010. Plasma ghrelin concentrations of beef cattle consuming a similar amount of dietary energy supplied by different ingredients. *J. Anim. Sci.* 88: 2289-2299.
- Wertz-Lutz, A. E., T. J. Knight, R. H. Pritchard, J. A. Daniel, J. A. Clapper, A. J. Smart, A. Trenkle, and D. C. Beitz. 2006. Circulating ghrelin concentrations fluctuate relative to nutritional status and influence feeding behavior in cattle. *J. Anim. Sci.* 84: 3285-3300.

CENÁRIO ATUAL E PERSPECTIVAS DA SUPLEMENTAÇÃO DE BOVINOS EM PASTEJO DO DESMAME AO ABATE

**Joanis Tilemahos Zervoudakis¹; Nelcino Francisco de Paula²; Pedro Ivo
José Lopes da Rosa e Silva³; Renata Pereira da Silva Marques⁴; Lucien
Bissi da Freiria³; Maria Isabel Leite da Silva³; Edimar Barbosa de Oliveira³;
Adriano Jorge Possamai³**

¹ Prof. Associado/Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA)-Universidade Federal de Mato Grosso, Bolsista Produtividade 1 D/CNPq. Membro INCT - Ciência Animal. joanis@ufmt.br;

² Prof. Adjunto/PPGCA - Universidade Federal de Mato Grosso;³ Discentes de Doutorado/PPGCA – UFMT; ⁴ Médica Veterinária, Mestre e Doutora em Ciência Animal/PPGCA – UFMT

INTRODUÇÃO

Atualmente, os sistemas de produção de bovinos a pasto no Brasil tem um grande desafio quanto ao uso de conhecimentos e tecnologias com vistas a aumentar a produtividade e qualidade da carne produzida, de forma econômica e com menor impacto ambiental. Assim, a bovinocultura de corte nacional deverá estabelecer sistemas de produção que permitam redução dos ciclos produtivos de forma intensiva, técnica, social e ambientalmente sustentáveis, em virtude das pressões sociais para que sejam incorporados critérios de sustentabilidade à produção agropecuária brasileira (Zervoudakis et al., 2011).

De acordo com Paulino et. al. (2017) a nutrição é o parâmetro de manejo que mais altera a idade do animal ao abate ou à primeira cria, e dessa forma, a precocidade ou taxa com que o animal aproxima-se do seu peso adulto é muito sensível às alterações nutricionais. Neste contexto, a otimização da produtividade animal em pastagens tropicais envolve o uso de alternativas tecnológicas que contornem o problema do crescimento descontínuo do rebanho (Zervoudakis et al., 2011).

Para tanto, o planejamento nutricional de bovinos mantidos em sistemas pastoris demanda o entendimento de um complexo conjunto de interações existentes entre animais e pasto, na busca do melhor ajuste quantitativo e ou qualitativo entre a demanda e o

suprimento de alimento, energia e nutrientes, em função do desempenho previamente definido no sistema de produção (Paulino et al., 2017).

Objetiva-se na presente revisão, abordar alguns dos aspectos atualmente explorados em sistemas de produção de carne bovina a pasto com fornecimento de suplementação concentrada.

EVOLUÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO CONCENTRADA DE BOVINOS A PASTO NO BRASIL

Conforme descrito de forma detalhada por Zervoudakis et al. (2014), as estratégias de suplementação de bovinos a pasto no Brasil iniciaram nos estudos pioneiros de Paulino à partir da década de 1980 e evoluíram de forma significativa nas últimas duas décadas, possibilitando diferentes estratégias de produção de carne bovina a pasto (Paulino et al., 2017). Atualmente a suplementação de bovinos a pasto destaca-se como tecnologia com grande flexibilidade de utilização e com potencial de ajuste às diferentes demandas dos sistemas de produção de carne bovina a pasto.

PLANOS NUTRICIONAIS PARA PRODUÇÃO INTENSIVA DE CARNE BOVINA NO PASTO

Nos últimos anos vários estudos foram realizados no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV) e relatados em Paulino et al. (2017); Paulino et al. (2014); Paulino et al. (2012); Paulino et al. (2010), com vistas a avaliar o impacto da suplementação fornecida desde a fase de amamentação até a fase final de engorda, em sistemas intensivos de produção de carne bovina a pasto.

Para tanto, avaliaram-se as características nutricionais e o desempenho produtivo de bovinos no sistema pasto/suplemento desde a fase de amamentação até o abate aos 18 meses de idade, em sistemas denominados de super precoce a pasto (Paulino et al., 2012 e Paulino et al., 2014a; Paulino et al., 2017).

Exemplificando tais estratégias, De Paula (2012) avaliou quatro planos de suplementação: mistura mineral, baixo, médio e alto nível de fornecimento de suplemento no sistema pasto / suplemento desde a fase de amamentação até o abate aos 18 meses de idade.

De maneira geral, observou-se que os maiores níveis de suplementação promoveram maior peso corporal final dos animais com peso ao abate de 359, 365,9, 397,5 e 443 kg, para os planos de suplementação controle, baixo, médio e alto, respectivamente. A suplementação proporcionou maiores pesos, rendimentos de carcaça e cortes comerciais quando comparados ao controle, com os maiores valores para o plano alto consumo de suplemento (De Paula, 2012).

Verificou-se ainda, que todos os cortes comerciais foram influenciados ($P < 0,10$) pela suplementação, com aumento de todos os cortes em função do aumento dos níveis de suplementação. Isto indica que o corpo do animal cresceu como um todo, incluindo todas as partes neste crescimento (De Paula, 2012).

Em estratégias de recria com aporte infrequente de nutrientes aos animais, Silva-Marques et al. (2017) avaliaram os efeitos da redução na frequência de suplementação sobre o desempenho produtivo e econômico e parâmetros nutricionais de novilhos Nelore pastejando gramínea tropical durante o período das águas no Estado de Mato Grosso. Os suplementos utilizados foram suplemento mineral (*ad libitum*) e suplementos proteico-energéticos, fornecidos diariamente (7X), 5X/semana (Segunda a Sexta-feira) e 3X/semana (Segunda, Quarta e Sexta-feira) (0,4% do peso corporal) de 1,5; 2,1 e 3,5 kg/animal, respectivamente. Todos animais receberam a mesma quantidade de suplemento semanalmente (10,5 kg/animal).

Pode-se verificar que houve influência da redução na frequência de suplementação no ganho médio diário, apesar de que todas as estratégias de suplementação possibilitaram ganhos superiores a 700g/dia (Tabela 1).

Tabela 1 - Desempenho (kg) de bovinos de corte em pastejo suplementados com suplemento mineral ou com concentrado com frequência controlada

	Suplementos ¹				EPM	Contrastes ³		
	SM ²	3X	5X	7X		SM x Freq	L	Q
PCi	358	359	359	356	7,21	-	-	-
PCf	391	417	432	422	3,72	<0,001	0,364	0,022
GPT	33	59	74	64	3,72	<0,001	0,364	0,022
GMD	0,396	0,703	0,877	0,762	0,04	<0,001	0,364	0,022

PCi= Peso corporal inicial; PCf= Peso corporal final; GPT= Ganho de peso total; GMD= Ganho de peso médio diário;

¹Frequência de suplementação (7X, 5X e 3X/semana); ²Sal mineral; ³SM x Freq: SM vs. Suplementados; L: Efeito Linear com a frequência de suplementação; Q: Efeito Quadrático com a frequência de suplementação.

Fonte: Silva Marques et al (2017).

O GMD dos animais suplementados 5X/semana foi 174 g maior que o obtido com suplementação diária, isso pode ser devido à capacidade dos ruminantes em reciclar nitrogênio e manter a digestão da fibra no rúmen mesmo entre os intervalos de suplementação, de forma similar aos animais recebendo suplemento diariamente.

Adicionalmente, Silva-Marques et al. (2017) relataram que os animais suplementados aumentaram a ingestão de MS sem reduzir a ingestão de forragem, e que isto é devido ao efeito associativo ou combinado da suplementação (Oliveira et al., 2015). Logo, a redução na suplementação (5X/semana) pode ser utilizada como ferramenta estratégica pelos produtores rurais para maximizar o uso da mão de obra e o ganho de peso dos animais do desmame a terminação, com vistas a reduzir os custos no sistema de produção, além de acelerar o retorno do capital investido devido ao curto período de tempo na fase de crescimento dos animais.

Estratégias de suplementação na fase de recria e seus impactos na fase de terminação

Considerando a necessidade de intensificação do setor pecuário, estratégias e/ou planos de suplementação devem ser estabelecidos com vista a explorar o potencial dos animais, aumentando a produtividade (produção de @/hectare/ano). Sendo assim, pesquisadores, técnicos e produtores tem despertado interesse por estratégias nutricionais que permitam intensificar a fase de recria e reduzir o tempo de permanência dos animais nesta fase. Todavia, as práticas de manejo nutricional adotadas na fase de recria devem ser bem planejadas, pois estas influenciarão diretamente o *status* nutricional que o animal alcançará na fase de terminação. Não obstante, variáveis econômicas são importantes na tomada de decisão por uma estratégia em detrimento a outra.

Dessa forma, com vistas a avaliar os efeitos de estratégias de suplementação na recria e seus impactos na terminação a pasto, Cabral (2015; Tabela 2 e Figura 1), avaliou os efeitos de diferentes estratégias de suplementação (suplemento mineral, 0,6% do PC e 1,2% do PC de suplemento) sobre o desempenho de bovinos de corte (1/2 sangue Brangus) durante a fase de recria no período das águas em pasto de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu (média de 10,4% de PB) e seus impactos na fase de terminação. Para tanto, na fase de terminação, na época seca do ano (pasto com 7,2% de PB), os animais de todas as estratégias de suplementação na recria, receberam concentrado com 18% de PB e 76% de NDT *ad libitum*. A fase de recria teve duração de 170 dias e a terminação 131 dias. Na fase de recria os animais suplementados com 0,6% e 1,2% do PC apresentaram ganhos adicionais de 0,483 e 0,604 kg/animal/dia (Tabela 2), respectivamente, o que representa aproximadamente 82,0 e 103 kg de peso corporal adicional no período, respectivamente. A estratégia de suplementação de 1,2% do PC proporcionou aumento na taxa de lotação de 84%; 125% e 106% na recria, engorda e recria-engorda, respectivamente, quando comparado à estratégia em que os animais receberam apenas suplementação

mineral. Essas métricas confirmam uma das grandes vantagens da suplementação em maiores níveis, que é o aumento na capacidade de suporte e maior produtividade/hectare (Cabral, 2015). Este novo modelo de produção tem ganhado força em várias regiões do país, notadamente na região central, onde a disponibilidade de animais e ingredientes alternativos é maior.

Tabela 2 - Desempenho produtivo de bovinos de corte submetidos a diferentes estratégias de suplementação na recria (águas) e recebendo concentrado *ad libitum* na fase de terminação (seca)

Item (kg) ¹	Estratégias de suplementação		
	Controle	0,6% do PC	1,2% do PC
Recria (águas)			
Peso corporal inicial	217,63	218,00	218,29
Peso corporal final	265,75	348,13	369,00
Ganho médio diário	0,283	0,766	0,887
Ganho de peso total	48,12	130,13	150,71
Terminação (seca)			
Peso corporal inicial	265,75	348,13	369,00
Peso corporal final	471,25	529,42	546,08
Ganho médio diário	1,581	1,395	1,362
Ganho de peso total	205,50	181,29	177,08

¹ Na fase de recria houve efeito quadrático para todas as variáveis avaliadas ($P < 0,01$) e na fase de terminação houve efeito linear para todas as variáveis analisadas ($P < 0,05$). Adaptado de Cabral (2015).

Verifica-se que os ganhos de peso dos animais que receberam apenas suplemento mineral foram baixos, considerando o bom potencial genético e que trata-se de um período de forragem de melhor qualidade. De acordo com o autor, possivelmente isto tenha ocorrido como resultado da elevada taxa de lotação estabelecida inicialmente (média de 3,6 UA/ha). Esta lotação pode ter comprometido o pastejo seletivo dos animais e conseqüentemente menor aporte de nutrientes por não receberem suplementação.

Na terminação, quando os animais tinham acesso *ad libitum* ao concentrado é possível verificar (Tabela 2) que os animais que receberam 1,2% do PC na recria, obtiveram menores ganhos de peso comparado aos animais do grupo 0,6% e controle. Os animais do grupo controle na fase de recria apresentaram maiores desempenhos diários quando foram suplementados *ad libitum* na terminação, possivelmente como resultado do ganho compensatório. Todavia, as maiores taxas de ganho de peso na terminação, não foram suficientes para alcançar o peso ao abate dos animais que receberam suplementação na recria (0,6 e 1,2% do PC). Esta resposta ratifica que os maiores pesos ao abate dos animais foram definidos pelas estratégias adotadas na fase de recria (Cabral, 2015; Tabela 2 e Figura 1).

Ao analisar a Figura 1, pode-se concluir que o ganho de peso dos animais durante todo o ciclo produtivo (recria-terminação), evidenciou que, restringir uma nutrição adequada na fase de maior eficiência alimentar dos animais, como é na recria dos animais, para depois investir em tecnologia na terminação para acelerar o peso e o tempo de abate, não foi uma estratégia otimizada em tempo e produção (Cabral, 2015). Os animais que submetidos à restrição nutricional na recria, mesmo quando receberam uma dieta adequada na fase de terminação não atingiram o potencial máximo de exploração da carcaça, comparado a animais que foram suplementados desde a recria (Cabral, 2015).

Figura 1 - Ganho médio diário (GMD) sem jejum de bovinos de corte submetidos a diferentes estratégias de suplementação na recria (águas) e recebendo concentrado *ad libitum* na fase de terminação (seca). Adaptado de Cabral (2015).

Adicionalmente, vários estudos avaliando o ganho em peso da desmama ao abate também foram realizados na APTA – Colina/SP, com várias estratégias de suplementação durante a recria, considerando fases de secas e águas e, de forma geral, evidenciou-se ganhos na recria variando de 4 a 7@ em função do tipo de suplementação utilizada. Essa variação permite flexibilizar o sistema produtivo. Em alguns casos pode-se optar por acelerar o ganho em peso, mesmo com elevação significativa do custo da arroba adicional. Decisões como essas podem proporcionar a entrada de animais em um ciclo de confinamento reduzindo em 6 a 1 meses a idade de abate (Siqueira et al., 2013). Destacando-se dessa forma, a importância da suplementação como ferramenta para reduzir o período de engorda em confinamento, em sistemas associados de produção de carne bovina.

Portanto, os benefícios da suplementação na fase de recria são estendidos ao período de terminação a pasto ou em confinamento, visto que animais suplementados durante a recria no pasto apresentaram maior ganho em peso, com maior rendimento e melhor acabamento de carcaça quando comparados com animais não suplementados terminados em confinamento. Além

disso, a suplementação dos animais no período que antecede a terminação pode auxiliar a adaptação no início do confinamento (Santos et al. , 2007).

Adicionalmente, a adoção de planos nutricionais distintos durante as fases que compõem a recria modificam as taxas e formas de ganhos dos animais durante o período que permanecem confinados, influenciando diretamente o tempo de permanência no sistema de produção e a qualidade da carcaça (Siqueira et al., 2013).

Estratégias de suplementação para bovinos em sistemas em não equilíbrio

Em situação considerada de sistema de pastejo em não equilíbrio, Silva-Marques et al. (2015) avaliaram níveis de fornecimento de suplementos múltiplos para novilhas Nelore em pastejo, em situação de limitação na oferta de pasto no período seco do ano, com o objetivo de se manter ganho contínuo de peso dos animais. Foram avaliados suplementos múltiplos com fornecimento de 2, 4 e 6 kg/dia, perfazendo níveis de fornecimento de: 0,55; 1,11 e 1,66% do peso corporal, respectivamente, além do grupo controle recebendo apenas suplemento mineral.

Nesse estudo a disponibilidade média de matéria seca (DMS) durante o período experimental foi de 0,63 t de MS/ha, valor este considerado limitante ao consumo de MS pelos animais em pastagens (Euclides, 1998).

O ganho médio diário dos animais recebendo suplementação concentrada (Tabela 3) foi superior ao daqueles que consumiram apenas a suplementação mineral, o que proporcionou incremento médio de 770 g/animal/dia. O maior desempenho foi obtido para o nível de suplementação de 1,66% PC, seguidos pelos níveis de 1,11% e 0,55%, respectivamente.

Tabela 3 - Consumo dos suplementos, peso corporal inicial (PCi), peso corporal final (PCf), ganho de peso total (GPT) e ganho médio diário (GMD) de novilhas no período da seca

Variáveis	Suplementos				Valor-P ¹		
	MM ¹	Níveis de fornecimento do suplemento			MM ¹ x suplemento	1,66% 0,55%	1,66% x 1,11%
		0,55% ²	1,11% ²	1,66% ²			
Consumo ³	0,016	2,00	4,00	5,87	-	-	-
PCi (kg)	309,6 ± 36,1	334,8 ± 36,8	335,8 ± 34,7	333,6 ± 38,1	-	-	-
PCf (kg)	294,6 ± 32,2	370,8 ± 37,7	384,8 ± 32,3	397,8 ± 35,4	-	-	-
GPT (kg)	-15,0 ± 5,3	37,2 ± 9,2	49,0 ± 4,8	64,2 ± 16,6	-	-	-
GMD (kg)	-0,179 ± 0,06	0,429 ± 0,10	0,583 ± 0,05	0,764 ± 0,19	<0,001	0,005	0,0315

¹Mistura mineral comercial; ²Níveis de fornecimento de suplementos múltiplos de 2, 4 e 6 kg/dia para 0,55; 1,11 e 1,66% do peso corporal, respectivamente. ³Consumo de suplementos múltiplos (kg/animal/dia). **Fonte:** Silva-Marques (2015).

O melhor desempenho dos animais suplementados com nível de 1,66% PCM (Tabela 3) pode estar relacionado ao maior consumo de suplemento, uma vez que o desempenho animal depende diretamente do consumo de matéria seca digestível, demonstrando a importância de se estabelecer estratégias de fornecimento de nutrientes para se viabilizar a produção intensiva de bovinos em pastejo, mesmo em sistemas em não equilíbrio; entretanto, deve-se levar em consideração os custos dos suplementos, uma vez que, nem sempre o melhor desempenho proporciona o melhor retorno econômico. Este fato é explicado no estudo, pois o nível de suplementação de 1,66% do PC foi o que proporcionou maior desempenho e menor retorno econômico. Destaca-se a melhor resposta produtiva e menor custo diário com a suplementação para a estratégia de fornecimento de 0,55% PCM, sendo esta economicamente viável.

USO DE GRÃOS SECOS DE DESTILARIA PARA ENGORDA DE BOVINOS A PASTO

Nos últimos anos tem sido crescente a busca por fontes de energia renováveis e o etanol produzido do milho demonstra grande potencial em virtude da elevada produção nacional de milho. E o Estado de Mato Grosso destaca-se pela sua produção de milho (29,5% da produção nacional) e por possuir as principais Usinas de produção de etanol oriundo do milho.

No processo de produção de etanol à partir do milho, o co-produto obtido, definido como grãos secos de destilaria (DDGS), surge como alternativa nutricional com amplo potencial de utilização no Brasil em substituição aos ingredientes tradicionais com vistas à reduzir o custo de produção dos animais.

Nesse contexto, Possamai (2018) (Dados Parciais ainda não publicados) avaliou o desempenho zootécnico e econômico da utilização de até 90% de DDGS em suplemento mineral-proteico-energético para fornecimento de 0,4% do peso corporal à bovinos Nelore, mantidos a pasto na época seca do ano. Foram avaliados níveis crescentes de utilização do DDGS na formulação em substituição ao milho e farelo de soja nos níveis de 0% (0D), 30% (30D), 60% (60D) e 90% (90D) (Tabela 4).

A taxa de lotação média foi de 4,14 UA.ha⁻¹, considerada alta para a época seca do ano e nível de suplementação adotado. Adicionalmente, em função direta da redução qualitativa e quantitativa da forragem ao longo do período, houve queda na resposta à suplementação independente do nível de DDGS nos suplementos (Tabela 5).

Tabela 4 - Formulação e composição bromatológica dos suplementos experimentais

Ingrediente	Inclusão de na dieta (g.kg.MS)			
	0 D	30 D	60 D	90 D
Grãos Secos de Destilaria ¹	-	300,0	600,0	900,0
Milho Moído	408,0	285,0	163,0	40,0
Farelo de Soja	532,0	355,0	177,0	-
Uréia	20,0	20,0	20,0	20,0
Mistura Mineral ²	40,0	40,0	40,0	40,0

² Mistura mineral comercial – Nutri Fós 40 – Nutrideal®, níveis de garantia por quilograma de produto: Cálcio 210g; Cobalto 51mg; Cobre 788mg; Enxofre 7000mg; Flúor 440mg; Fósforo 40g; Iodo 62mg; Magnésio 7000mg; Manganês 563mg; Selênio 10mg; Sódio 97,5g; Zinco 2025mg.

Fonte: Possamai (2018 – Dados Parciais).

No entanto não houve influência dos diferentes níveis de inclusão de DDGS nos suplementos ($P>0,05$) para as métricas de ganho de peso total e ganho médio diário, demonstrando o potencial de utilização do DDGS em suplementos para animais em fase de terminação a pasto durante a estação seca do ano em substituição ao milho e farelo de soja.

Tabela 5 - Desempenho de bovinos suplementados com DDGS no período seco

Período	Inclusão de DDGS				<i>p</i> -Valor
	0D	30D	60D	90D	
Peso Corporal (kg)					
Início	428,92	428,67	427,63	428,33	0,58
Final	501,09	497,97	504,13	504,56	0,49
Ganho de Peso (kg)					
0-84	72,18	69,30	76,50	76,23	0,39
Ganho Médio Diário					
0-84° dias	0,86	0,83	0,91	0,91	0,39

Fonte: Possamai (2018 – Dados Parciais).

Cabe ressaltar alguns pontos chaves que nortearam a ausência de efeito para inclusão de DDGS em substituição ao milho e farelo de soja nos suplementos. A participação do DDGS na dieta dos animais foi 6,78; 12,18 e 16,59%, para os suplementos 30D; 60D e 90D, respectivamente ao estimarmos o consumo de matéria seca desta categoria, ajustando ao desempenho encontrado (Valadares-Filho et al., 2010). Assim, a inclusão de DDGS permaneceu em níveis inferiores aos 20% descritos por Buckner et al., (2008), ou 40% descritos por Klopfenstein et al. (2008), como níveis crítico de inclusão em função do metabolismo proteico e ajuste da dieta. Desta maneira a manutenção no fornecimento quantitativo de nutrientes permitiu adequado suporte para fermentação ruminal (Christie et al., 2010; Walter et al., 2012), possibilitou a manutenção no desempenho

A avaliação econômica foi realizada levando em consideração a suplementação com formulação tradicional como parâmetro de investimento, tendo em vista a remuneração do capital investido, dividindo-se a margem de lucro pelo investimento total envolvido no processo de suplementação (Tabela 6).

Tabela 1 - Indicadores econômicos para utilização dos grãos de destilaria na suplementação de bovinos de corte a pasto na época seca do ano

Variáveis	Unidade	Suplemento			
		0D	30 D	60 D	90 D
Suplementação Diária	R\$/dia	1,85	1,61	1,38	1,14
Operacional	R\$/dia	1,27	1,27	1,27	1,27
Custo Diário	R\$/dia	3,12	2,88	2,65	2,41
Suplementação no período	R\$/Período	155,15	135,54	115,60	95,73
Custo Período	R\$/Período	261,74	242,13	222,19	202,32
Boi Magro	R\$/Animal	1.927,74	1.927,74	1.927,74	1.927,74
Custo Total Total	R\$/Período	2.231,54	2.211,56	2.191,24	2.170,98
Produção carcaça	Kg/Período	36,90	36,90	36,90	36,90
Custo Nutricional carcaça produzida	R\$/kg	4,20	3,67	3,13	2,59
Custo Total carcaça Produzida	R\$/kg	7,08	6,55	6,01	5,47
Receita Bruta	R\$	2.260,40	2.260,40	2.260,40	2.260,40
Receita Líquida	R\$	28,85	48,83	69,16	89,42
Lucro	%	1,29	2,21	3,16	4,12
Lucratividade	% mês	0,47	0,80	1,14	1,49
Ponto de equilíbrio GPD	Kg/dia	0,804	0,751	0,697	0,643
Lotação	UA.ha	4,14	4,14	4,14	4,14
Receita	R\$.ha	115,40	195,34	276,63	357,66

Fonte: Possamai (2018 – Dados Parciais) (Adaptado).

Independente da formulação utilizada, a suplementação na época seca do ano mostrou resultado positivo. Entretanto, a viabilidade econômica foi incrementada à medida que o DDGS foi incluído no suplemento, com redução no custo de carcaça produzida na ordem de 7,49; 15,11 e 22,70% para os suplementos 30D; 60D e 90D, respectivamente, comparados ao 0D (padrão). Desta maneira a receita líquida foi incrementada em 69,26; 139,71 e 209,92% para a utilização dos suplementos 30D; 60D e 90D, respectivamente (Tabela 6).

Também avaliando co produto oriundo de fontes energéticas renováveis, José Neto et al. (2016) e Possamai et al. (2015), ressaltaram o potencial de utilização da glicerina em substituição a ingredientes energéticos para suplementação de bovinos em

pastejo, de forma a melhorar a eficiência de utilização do nitrogênio por bovinos mantidos em pastagens tropicais.

Assim, a disponibilidade de suplementos a baixo custo pode proporcionar a manutenção da rentabilidade do sistema produtivo, devendo-se atentar também para fatores ligados à logística e disponibilidade local dos ingredientes (Paulino et al., 2010). A flexibilidade na formulação dos suplementos amplia a possibilidade de utilização dos mesmos, no sistema produtivo brasileiro.

SUPLEMENTAÇÃO COMO FERRAMENTA PARA MELHORIA NA QUALIDADE DA CARNE PRODUZIDA

Um ponto importante a ser considerado em sistemas de engorda a pasto, refere-se à cobertura de gordura insuficiente da carcaça, que leva a promoção de danos à carne durante seu processamento na indústria frigorífica, principalmente decorrente do abate maçante de macho Nelore não castrados, sem suplementação concentrada durante a fase de terminação, e que dificilmente alcançam a cobertura de gordura mínima exigida pela indústria frigorífica que é de 3 mm.

Neste sentido, Possamai (2014) avaliou características de carcaça de bovinos machos não castrados, Nelore, com peso inicial de 472 kg (28 meses), e constatou através de mensurações realizadas por ultrassonografia antes do início da fase de suplementação, acabamento de carcaça insuficiente (2,98 mm). Nesse estudo forneceram-se suplementos múltiplos por 84 dias, durante a estação das águas, em quantidades em torno de 0,75% do PC. O ganho médio diário dos animais foi de 1,35 kg/dia, e apresentou-se de forma economicamente viável, com taxa de retorno de 2,31% ao mês. A espessura de gordura subcutânea após o período de engorda a pasto elevou-se de 2,98 para 5,89 mm, acabamento este classificado como mediano pela indústria frigorífica, sendo o preço da arroba bonificado como a de animais castrados (Possamai, 2014).

Adicionalmente, é notório atualmente, tendência de maior demanda por produtos cárneos com menor quantidade de gordura,

tidos como mais saudáveis e que apresentem perfil de ácidos graxos mais benéficos à saúde (menor quantidade de gorduras saturadas, presença de ácidos graxos poli-insaturados e ácido linoleico conjugado/CLA), associado a cobertura mínima de gordura para proporcionar boa qualidade final da carne produzida na engorda de bovinos a pasto (Paulino e Oliveira, 2013).

Com relação à composição de ácidos graxos na carcaça produzida, percebe-se que os lipídeos são alterados de forma intensiva no rúmen através da lipólise e biohidrogenação, resultando em grandes diferenças entre o perfil de ácidos graxos da dieta (principalmente os insaturados) e o perfil de lipídeos da carne produzida. No entanto, parte dos ácidos graxos insaturados consegue atravessar o trato gastrointestinal e serem depositados na carcaça (Paulino e Oliveira, 2013).

Assim a dieta fornecida aos animais constitui principal fator responsável pela qualidade do perfil de ácidos graxos na carne bovina. E nesse contexto, destacam-se os ácidos graxos linoleico (ω -6) e linolênico (ω -3), considerados essenciais para a saúde humana, uma vez que não podem ser sintetizados por animais, devendo ser incorporados através do alimento e balanceados idealmente, em uma relação 4:1 (ω -6: ω -3); estando relacionada a prevenção de doenças cardiovasculares, câncer e doenças crônicas, e favorecida pela manipulação no sistema de criação (dietas baseadas em pastagens) da mesma forma que teor de ácido linoleico conjugado, cinco vezes maior em animais criados à pasto (Dhiman et al., 1999, citados por Paulino e Oliveira, 2013).

Nesse enfoque, Possamai (2014) avaliaram a inclusão de até 25% de caroço de algodão (CA) e até 15% de glicerina bruta (GLIC), em suplementos proteico-energético (oferta de 0,75% do peso corporal), durante a fase de terminação de bovinos Nelores, machos, não castrados em regime de pastejo, sobre o perfil lipídico da carne produzida (Tabela 7). Verificou-se ao incluir caroço de algodão, redução na quantidade $C_{14:1}$ (ácido miristoleico), $C_{16:0}$ (ácido palmítico), $C_{16:1}$ (ácido palmitoleico) e $C_{17:0}$ (ácido margarico), ácidos graxos considerados hipercolesterolêmico dado

ao aumento das proteínas de baixa densidade (LDL) no plasma humano (Wood et al., 2003). A inclusão de glicerina bruta aumentou os teores de C_{18:2} *cis* 9 *trans* 11 (CLA), o que pode beneficiar a saúde dos consumidores por seu conhecido efeito anticarcinogênico e redução no teor de colesterol sérico (Ascherio e Willet, 1997).

Os resultados promissores obtidos no estudo de Possamai (2014) destacam a necessidade de avaliação de outras fontes oleaginosas na dieta de animais em terminação, determinando possíveis interações, como teores de extrato etéreo no alimento, perfil lipídico da oleaginosa utilizada e o glicerol fornecido aos animais.

Tabela 7 - Perfil lipídico do músculo *longissimus dorsi* de bovinos em pastejo recebendo suplementos com caroço de algodão (CA) ou glicerina bruta (GLIC)

Ácido Graxo	Suplementos				Efeitos (valor-P)			
	0 GLIC		15 GLIC		GLIC.	CA	GLIC x CA	EPM ²
	0 CA	25 CA	0 CA	25 CA				
C14:1 C9	1,443	1,259	1,505	1,194	0,989	0,049	0,600	0,061
C16:0	26,58	24,37	25,81	24,703	0,772	0,038	0,470	0,395
C16:1 C9	3,635	3,026	3,347	2,968	0,301	0,006	0,487	0,094
C17:0	1,052	0,995	1,272	1,102	0,002	0,028	0,249	0,031
C17:1	0,532	0,427	0,677	0,386	0,078	0,000	0,003	0,026
C18:0	17,68	22,23	17,55	21,689	0,684	0,000	0,802	0,594
C18:1 C12	0,422	0,398	0,516	0,334	0,759	0,043	0,111	0,026
C18:1 C13	0,233	0,182	0,276	0,159	0,700	0,004	0,221	0,015
C18:1 T16	0,028	0,024	0,029	0,022	0,367	0,017	0,311	0,001
C18:3 n6	0,006	0,003	0,001	0,004	0,177	0,566	0,048	0,000
C18:3 n3	0,479	0,358	0,453	0,401	0,732	0,002	0,187	0,015
C18:2 C9 T 11	0,477	0,341	0,533	0,413	0,046	0,004	0,800	0,020
C20:1	0,123	0,108	0,151	0,113	0,140	0,020	0,298	0,001

¹ contrastes ortogonais GLIC (efeito da inclusão de glicerina); CA (efeito da inclusão de caroço de algodão); GLIC x CA (interação de glicerina com caroço de algodão; ² Erro padrão da média.

Fonte: Possamai, 2014(Adaptado).

Portanto, a idade e os sistemas de alimentação modificam o perfil de ácidos graxos da gordura intramuscular, podendo ser

utilizada como ferramenta para nichos específicos de mercado (Moraes et al., 2013).

Por outro lado, constata-se com frequência, acabamento de gordura insuficiente na carcaça de animais jovens a pasto (Novilho Super Precoce e Precoce), o que pode prejudicar a qualidade da carcaça produzida durante o processo de resfriamento na indústria frigorífica.

Estudos evidenciam que algumas fontes lipídicas como o óleo de palma promove a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos no tecido adiposo do subcutâneo, devido as altas concentrações de ácido saturado palmítico (16:0) e esteárico (C18:0) que promovem a expressão gênica adipogênica, enquanto o óleo de soja, rico em ácidos graxos monoinsaturado oleico (C18:1 cis-9) e poli-insaturados ácido linoleico (C18:2n-6) e ácido linolênico (C18:3n-3) reduz a diferenciação de adipócitos em confinamento por redução da expressão de genes adipogênicos (Choi, et, al., 2015).

Nesse contexto, e na busca por melhores qualidades de carcaça em sistemas de produção de novilhos precoces a pasto, Silva (2018 – Dados Parciais), estabeleceu a premissa de que a suplementação com gordura protegida promoveria benefícios nas características de carcaça e no desempenho. Assim, possibilitando a obtenção de carcaças com acabamentos satisfatórios em bovinos Nelores jovens (17-18 meses ao abate) na estação seca do ano, quando suplementados com gordura protegida de palma, enquanto que a suplementação com gordura de soja possibilitaria aumentos nos ganhos de carcaça e maior eficiência biológica.

Foram formulados suplementos proteicos energéticos para fornecimento diário de 5kg/animal adicionados de: - 300 g de gordura protegida de soja; - 300 g de gordura protegida de palma, associação de 150g de gordura protegida de soja e 150g de gordura protegida de palma ou o suplemento protéico energético sem a adição de gordura (CO) (Tabela 8), representando em média 1,1% do PC em oferta de suplemento, com base à matéria natural. Os suplementos foram formulados para serem isoprotéicos, atendendo a 80% da exigência diária de proteína bruta (Valadares-Filho et al., 2010).

Tabela 8 - Ingredientes e composição química dos suplementos e da forragem *Urochloa brizantha* cv. Marandu

	Suplementos ¹				Forragem
	GP	GPS	GS	CO	
Ingredientes, %MS					
Suplemento mineral/ proteico energético ^{2,3}	47,2	47,2	47,2	50,0	-
Milho	18,9	18,9	18,9	20,0	-
DDG	18,9	18,9	18,9	20,0	-
Farelo de Soja	9,4	9,4	9,4	10,0	-
Gordura protegida de palma	5,7	2,85	-	-	-
Gordura protegida de soja	-	2,85	5,7	-	-

¹ GP= consumo de suplemento com adição de 300g de gordura protegida de palma (NUTRICORP®), fonte de ácidos graxos saturados; GPS = associação das duas gorduras protegidas (150g cada); GS = consumo de suplemento com adição de 300g de gordura protegida de soja (NUTRICORP®), fonte de ácidos graxos insaturados, CO = consumo de suplemento sem adição de gordura. ² Suplemento comercial (Probeef-TPS Cargill®) – Níveis de garantia por kg de produto: . ³ MS: Matéria Seca; MO: Matéria Orgânica; PB: Proteína Bruta; FDNcp: Fibra Insolúvel em Detergente Neutro corrigida para cinzas e proteína; CNF: Carboidratos não fibrosos; EE: Extrato Etéreo. ^{3/} Pesquisa conduzida em parceria com a empresa Nutron/Cargill®. Fonte: Silva (2018 – Dados Parciais ainda não Publicados).

Foram utilizados bovinos de corte Nelore, machos, não castrados com idade e peso inicial de 15 meses e 389,5 ± 20 Kg, mantidos no período seco do ano, no Setor de Nutrição de bovinos de corte a Pasto/UFMT – Cuiabá. Os animais foram mantidos anteriormente em pastagens de boa qualidade e suplementados para atender exigência de ganhos de 1 kg por dia, de forma que o manejo prévio foi realizado para eliminar possíveis ganhos compensatórios no experimento e dessa forma poder alcançar idade de abate próximo a 18 meses, caracterizando por animais precocemente abatidos.

Tabela 9 - Efeitos da adição de gordura protegida no suplemento sobre o desempenho e características de carcaça de novilhos em terminação a pasto

	Suplementos ¹					<i>P-value</i>	Contrastes		
	GP	GPS	GS	CO	EPM		G ³ vs CO	GS vs GP	GP vs CO
Desempenho²									
Pi, kg	389,4	389,5	389,5	389,6	2,90	-----	-	-	-
Pf, kg	509,6	501,5	489,1	499,1	3,90	0,33	-	-	-
GMD, kg	1,07	1,00	0,89	0,98	0,02	<0,01	0,81	<0,01	0,08
PCi, kg	203,8	203,9	203,9	203,9	1,52	---	-	-	-
PCf, kg	277,9	274,4	272,7	270,8	2,04	0,69	-	-	-
GMDC, kg	0,66	0,63	0,61	0,60	0,01	0,18	-	-	-
RC, %	54,56	54,69	55,78	54,27	0,20	0,02	0,07	0,02	0,57
R.Ganho, %	61,90	63,23	68,02	61,29	0,95	0,02	0,10	0,01	0,80
G.Renal, kg	2,95	2,65	2,56	2,16	0,10	0,04	0,01	0,16	<0,01
G.Cardi, kg	0,17	0,16	0,14	0,14	0,01	0,39	-	-	-
G.Pélvica, kg	3,25	2,50	2,15	2,12	0,14	0,02	0,15	<0,01	<0,01
G.Visceral, kg	6,37	5,32	4,85	4,42	0,22	0,03	0,03	0,03	<0,01
E. Biológica	185,09	178,91	178,72	190,80	4,09	0,71	-	-	-
E. Alimentar	0,14	0,14	0,13	0,13	0,01	0,63	-	-	-
EGS	3,50	3,04	2,75	1,50	0,23	0,02	<0,01	0.19	<0,01

¹ GP= consumo de suplemento com adição de 300g de gordura protegida de palma (NUTRICORP®), fonte de ácidos graxos saturados; GPS = associação das duas gorduras protegidas (150g cada); GS = consumo de suplemento com adição de 300g de gordura protegida de soja (NUTRICORP®), fonte de ácidos graxos insaturados, CO = consumo de suplemento sem adição de gordura; ² PCi: Peso Corporal Inicial; PCf: Peso Corporal Final; GMD: Ganho Médio Diário; PCi: Peso de Carcaça Inicial; PCf: Peso de Carcaça Final; GMDC: Ganho Médio Diário de Carcaça; RC: Rendimento de Carcaça; R. Ganho: Rendimento do Ganho; G. Renal: Gordura Renal; G. Cardi: Gordura Cardíaca; G. Pélvica: Gordura Pélvica; G. Visceral: Gordura Visceral; E. Biológica: Eficiência Biológica; EGS: Espessura de Gordura Subcutânea. ³ Consumo de suplemento com adição de 300g de gordura protegida. ^{3/} Pesquisa conduzida em parceria com a empresa Nutron/Cargill®. Fonte: Silva (2018 – Dados Parciais ainda não Publicados).

A gordura protegida quando comparada ao controle (sem adição de gordura protegida)(Tabela 9), proporcionou melhores condições de acabamento das carcaças ($P<0,003$). Cabe salientar que apenas os suplementos que continham gordura protegida de

palma alcançaram acabamento superior a 3 mm (normalmente valor mínimo para não haver penalização do valor da arroba produzida. Nesse contexto, Choi et al. (2013) evidenciaram que os ácidos graxos saturados tem maior adipogenicidade, estimulando genes ligados ao acabamento; este efeito dos ácidos graxos saturados também é observado quando analisamos a gordura visceral que foi superior quando gordura de palma foi adicionada ao suplemento.

Quando comparamos a gordura protegida de palma vs gordura protegida de soja observamos que a gordura de palma possibilitou maior GMD ($P < 0,0012$) e RC ($P < 0,0154$); no entanto proporcionou menor rendimento do ganho ($P < 0,0101$). Tal comportamento observado pode ser justificado pois a gordura protegida de soja possui um perfil de ácidos graxos com grande participação de ácidos graxos insaturados, os quais tem efeito sobre a deposição de carcaça, possibilitando que essa energia adicional seja desviada da adipogênese para a miogênese.

Assim, é fundamental o uso de tecnologias como a suplementação a pasto que permitam aos animais otimização do ganho de peso em todas as fases do ciclo produtivo para abate de bovinos em idade de 18 meses em sistema de pastejo, conforme preconizado por Paulino et al. (2017). Adicionalmente, a utilização de suplementação lipídica para maior aporte energético, com vistas a melhorar o acabamento das carcaças produzidas nesses sistemas produtivos, pode ser uma alternativa estratégica para nichos específicos de mercado, que demandam carne de animais jovens, mas com acabamento mínimo de gordura na carcaça.

Trabalhando na mesma linha de pesquisa desenvolvida na UFMT/Campus Cuiabá, Possamai (2018 – Dados Parciais ainda não Publicados), objetivou avaliar a suplementação proteica energética na fase de terminação, adicionando de quatro níveis de óleo de soja: 0; 200; 400 e 600 g aos suplementos, fornecidos diariamente em quantidades equivalentes de 5 kg/animal (em média 0,88% do PC em oferta de suplemento, com base à matéria natural) (Tabela 10).

A adição de óleo independentemente do nível, incrementou o ganho de peso diário e total ($P = 0,01$) (Tabela 10). Pode-se atribuir

esse comportamento observado à melhora na eficiência energética dos animais com o aumento na quantidade lipídeos na dieta, visto que o uso de ácidos graxos pré-formados dispensa a síntese de novo a partir do acetato e, conseqüentemente, evita a parte do incremento calórico (perda de energia como calor) associado a esta rota metabólica; A geração de energia por oxidação de ácidos graxos de cadeia longa é cerca de 10% mais eficiente que a oxidação de acetato (Kozloski, 2011).

Em níveis superiores de lipídios na dieta a redução no desempenho é recorrente sendo normalmente atribuída a interferência no CMS, decorrente da reduzida digestibilidade da fibra (Andrae et al., 2001), o que leva a maior limitação de altas inclusões de EE na dieta utilizando fontes de óleo livre.

Tabela 10 - Desempenho de bovinos terminando a pasto em função do fornecimento de 0; 200; 400 ou 600 g de óleo de Soja/dia

Desempenho	Inclusão de Óleo de Soja				P-Valor
	0g Óleo	200 g Óleo	400 g Óleo	600 g Óleo	
Peso (kg)					
Inicial	520,17	520,75	520,45	520,40	0,96
Final	601,33	626,50	620,11	624,40	0,93
Carcaça Final	321,75	329,71	320,14	326,50	0,30
Rendimento (%)	53,49	52,61	52,24	52,30	0,34
Gordura Visceral (kg)	4,20ab	4,70ab	5,25 ^a	3,95b	0,02
Acabamento (mm)	2,55b	3,62a	3,23a	3,47a	0,04
Ganho de peso					
Total	81,16b	105,75a	99,65a	104 ^a	0,01
Diário	1,01b	1,32a	1,24a	1,30a	0,01
Diário – Carcaça	0,77	0,87	0,75	0,83	0,34

Fonte: Possamai (2018).

Deve-se atentar que a suplementação e seus resultados positivos são dependentes de diversos fatores como: nível de suplementação, suplemento utilizado, aspectos qualitativos e quantitativos da pastagem, interações entre ingredientes do suplemento entre si e com a pastagem, potencial genético do animal, entre outros (Paulino et al., 2014).

Deste modo, cabe ao produtor delinear de acordo com o nível de intensificação que deseja implementar na propriedade a melhor estratégia de terminação. Os animais podem ser abatidos como superprecoce no pasto com até 18 meses de idade (Paulino et al., 2006a); novilho precoce com abate até 22 meses; e abate entre 24 a 27 meses de idade. Assim, na escolha de qualquer estratégia, o planejamento alimentar é primordial, passando pelo correto manejo das pastagens e a estratégia de suplementação a ser adotada.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A suplementação é utilizada de forma crescente como ferramenta estratégica de produção em ciclos intensivos de produção de carne bovina a pasto. No contexto de pecuária de ciclo curto e sustentável, a suplementação destaca-se pela sua função primordial de fornecimento de nutrientes limitantes à maximização do desempenho animal, mas também de forma multifatorial, por favorecer as métricas de desempenho individual e por área, condicionamento às dietas com maior aporte de concentrado, melhoria na qualidade da carne produzida e potencial de redução na produção de gases de efeitos estufa/kg de carcaça produzida. Adicionalmente, ressalta-se o impacto direto na lucratividade dos sistemas de produção pela redução no ciclo de produção e maior giro de capital investido.

REFERÊNCIAS

- ANDRAE, J. G.; DUCKETT, S. K.; HUNT, C. W.; PRITCHARD, G. T.; OWENS, F. N. Effects of feeding high-oil corn to beef steers on carcass characteristics and meat quality. **Journal of Animal Science**, n. 79, p. 582-588, 2001.
- BARBERO, R. P. **Impactos produtivos, ambientais e econômicos de estratégias de suplementação da dieta de bovinos de corte sob alturas de pastejo e estratégias de terminação**. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo. (Em andamento). 2014.
- BUCKNER, C. D.; MADER, T. L.; ERICSON, G. E.; COLGAN, S. L.; MARK, D. R.; BREMER, V. R.; KARGES, K. K. GIBSON, M. L. Evaluation of Dry Distillers Grains Plus Solubles Inclusion on Performance and Economics of Finishing Beef Steers. **The Professional Animal Scientist**, n. 24, p. 404-410, 2008.
- CABRAL, W.B. **Estratégias de suplementação de novilhos de corte em pastejo. 2015. 81f.** Tese (Doutorado em Agricultura Tropical) – Universidade Federal de Mato Grosso. Cuiabá, 2015.
- CHOI, S. H.; PARK, S. K.; CHOI, C. W.; ZI, X. Z.; KIM, K. H.; KIM, W. Y.; JEONG, J.; JOHNSON, B.; ZAN, L. SMITH, S. B. The Expression of Adipogenic Genes in Adipose Tissues of Feedlot Steers Fed Supplementary Palm Oil or Soybean Oil. **Asian Australasian Journal Animal Science**. v. 29. n 3. p. 404-412, 2016.
- CHOI, S. H., GANG, G. O., SAWYER, J. E., JOHNSON, B. J., KIM, K. H., CHOI, C. W., SMITH, S. B. 2013. Fatty acid biosynthesis and lipogenic enzyme activities in subcutaneous adipose tissue of feedlot steers fed supplementary palm oil or soybean oil. **J. Anim. Sci.** 91:2091-2098.
- DE PAULA, N., F. **Avaliação do crescimento de bovinos de corte no sistema pasto/suplemento submetidos a diferentes planos nutricionais**. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. UFV. Viçosa-MG. 151p. 2012.
- DETMANN, E.; PAULINO, M.F.; VALADARES FILHO, S.C.; et al. **Aspectos Nutricionais aplicados a bovinos em pastejo nos trópicos**. IX Simpósio de Produção de Gado de Corte. IX SIMCORTE, Viçosa-MG. Anais...p.239-267. 2014.

FERNANDES, H.J. Estudo do crescimento de tourinhos em pastejo recebendo suplementação concentrada com diferentes perfis protéicos. **Tese** (Doutorado em Zootecnia) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2009, 301p.

JOSE NETO, A. J.; ZERVOUDAKIS, J. T.; SILVA-MARQUES, R. P. DA; SILVA, L. C. R. P.; HATAMOTO-ZERVOUDAKIS, L. K. AND. KLOPFENSTEIN, T. J. **Suitable strategy to improve nitrogen utilization and reduce the environmental impact of Nellore bulls supplemented on tropical pasture.** In: Journal of Animal Science. J. Anim. Sci. 2016.94:p.1110–1122. 2016.

KLOPFENSTEIN, T. J.; ERICKSON, G. E.; BREMER, V. R. Board-invited review: Use of distillers by-products in the beef cattle feeding industry. **Journal of Animal Science.** n. 86, p. 1223-1231, 2008.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos Ruminantes.** 3ª Edição revista e ampliada. Ed. UFMS. Santa Maria. RS. Brasil. 216p. 2011.

MORAES, E. H. B. K.; MORAES, K.A.K.; OLIVEIRA, A.S. et al. **Sistemas Intensivos de Produção de carne bovina com uso de suplementos múltiplos.** In: ZERVOUDAKIS, J. T.; SILVA, R. P.; JUNIOR, M. F. D. et al. **II SIMBOV MT (II Simpósio Matogrossense de Bovinocultura de Corte).** 2ª ed. Cuiabá, v.2. **Anais...** p.107-150, 2013.

OLIVEIRA, A.P.; CASAGRANDE, D.R.; BERTIPAGLIA, L.M.A.; BARERO, R.P.; BERCHIELLI, T.T.; RUGGIERI, A.C.; REIS, R.A. 2015. Supplementation for beef cattle on Marandu grass pastures with different herbage allowances, Animal Production Science, 53, 1-7.

PAULINO, M.P., DETMANN, E., RENNÓ, L.N., SILVA, A.E.M, et al. **Recentes Avanços em Estratégias de Suplementação de Bovinos de Corte em Pasto.** In: ZERVOUDAKIS, J. T. e DE PAULA, N.F.. **IV SIMBOV MT (IV Simpósio Matogrossense de Bovinocultura de Corte).** 4ª ed. Cuiabá, v.4. **Anais...** p.109-128, 2017.

PAULINO, P. V. R.; OLIVEIRA, I. M.; BENATTI, J. M. B. Obtenção de carcaças bovinas superiores através do manejo nutricional. In: Congresso Brasileiro de Zootecnia, 24, Vitória, 2014, **Anais...** Vitória, ZOOTECA, 2014.

PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; SILVA, A.G. et al. **Bovinocultura Otimizada.** IN: IX Simpósio de Produção de Gado de Corte. IX SIMCORTE, Viçosa-MG. **Anais...**p.139-164. 2014a.

- PAULINO, M.F.; DETMANN, E.; SILVA, A. G. et al. **Bovinocultura de alto desempenho com sustentabilidade**. In: VIII Simpósio de Produção de Gado de Corte e IV Simpósio Internacional de Produção de Gado de Corte, 2012, Viçosa. Anais... Viçosa: VIII SIMCORTE, p.183-196. 2012.
- PAULINO, M. F.; MORAES, E. H. B. K.; ZERVOUDAKIS, J. T.; ALEXANDRINO, E.; FIGUEIREDO, D. M. Terminação de novilhos mestiços leiteiros sob pastejo, no período das águas, recebendo suplementação com soja. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.1, p. 154- 158, 2006.
- PAULINO, M.F.; ZAMPERLINI, B.; FIGUEIREDO, D.M. et al. Bovinocultura de precisão em pastagens. In: Simpósio de produção de gado de corte, 5., Simpósio Internacional de produção de gado de corte, 1., 2006, Viçosa, MG. Anais... Viçosa, MG: SIMCORTE, p.361-411, 2006a.
- PAULINO, M. F.; FIGUEIREDO, D. M.; MORAES, E. H. T. B.; PORTO, M. O.; ACEDO, T. S.; VILLELA, S. D. J.; VALADARES FILHO, S. C. Suplementação de bovinos em pastagens: uma visão sistêmica. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 4, 2004, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIMCORTE, 2004, p.93-139.
- PAULINO, M.F., ZERVOUDAKIS, J.T, DE MORAES, E.H.B.K., DETMANN, E., VALADARES FILHO, S.C. Bovinocultura de ciclo curto em pastagens . In: Simpósio de Produção de Gado de Corte, 3, Anais... Viçosa/MG: UFV, DZO, p.153-196, 2002.
- PAZDIORA, R. D.; RESENDE, F. D.; FARIA, M. H.; SIQUEIRA, G. R.; ALMEIDA, G. B. S.; SAMPAIO, R. L.; PACHECO, P. S.; PRIETTO, M. S. R. Animal performance and carcass characteristics of Nellore young bulls fed coated or uncoated urea slaughtered at different weights. *Revista Brasileira de Zootecnia*. v.42, n.4, p.273-283, 2013.
- POSSAMAI, A. J. Grão secos de destilaria e Suplementação Lipídica para engorda intensiva de bovinos de corte a pasto. Tese de Doutorado. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. UFMT. Cuiabá-MT. 2018 (No Prelo).
- POSSAMAI, A. J.; ZERVOUDAKIS, J. T.; CABRAL, L. S.; OLIVEIRA, A. S.; HATAMOTO-ZERVOUDAKIS, L. K.; FREIRIA, L. B; DONIDA, E. R.; KOSCHECK, J. K. F; SILVA, P. I. J. L. R.; MELO, A. C. B. Glicerina bruta e caroço de algodão em suplementos múltiplos para terminação de bovinos à pasto na época das águas. Análise econômica. **Archivos de Zootecnia**. v. 64, n. 246, p. 109-116. 2015.

POSSAMAI, A. J. Carço de algodão e glicerina bruta em suplementos múltiplos para bovinos à pasto. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). 2014, 62p. Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2014.

RESENDE, F. D., SIQUEIRA, G.R.; SIGNORETTI, R. D.; FARIA, M. H.; SAMPAIO, R. L. Estratégias de suplementação na recria e terminação de bovinos de corte. IN: ANAIS DO VI SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS. Lavras, MG. 157-184. 2009.

REZENDE, P. L. P.; RESTLE, J.; FERNANDES, J. J. R.; FREITAS NETO, M. D.; PRADO, C. S.; PEREIRA, M. L. R. Carcass and meat characteristics of crossbred steers submitted to different nutritional strategies at growing and finishing phases. *Ciência Rural*, v.42, n.5, p. 875 - 881, 2012.

SANTOS, F.A.P., CORREIA, P.S., RAMALHO, T.R., COSTA, D.F.A. Sistemas intensivos de recria de bovinos com suplementação em pastagens e confinamento. In: SIMPÓSIO SOBRE BOVINOCULTURA DE CORTE: REQUISITOS DE QUALIDADE NA BOVINOCULTURA DE CORTE. 6, Piracicaba, 2007. Anais... Piracicaba: FEALQ, Piracicaba, p. 183-219. 2007.

SANTOS, E. D. G.; PAULINIO, M. F.; LANA, R. P.; VALADARES FILHO, S. C.; QUEIROZ, D. S. Influência da Suplementação com Concentrados nas Características de Carcaça de Bovinos F1 Limousin - Nelore, Não-Castrados, durante a Seca, em Pastagens de *Brachiaria decumbens*. *Revista Brasileira de Zootecnia.*, v.31, n.4, p.1823-1832, 2002.

SILVA, P. I. J. R. L. **Performance of young Nelore cattle grazed in the dry season of the year supplemented with protected palm or soybean fat.** Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. UFMT. Cuiabá-MT. 2018 (No Prelo).

SILVA-MARQUES, R.P.; ZERVOUDAKIS, J.T.; DE PAULA, N.F.; HATAMOTO-ZERVOUDAKIS, L.K.; SILVA, P.I.J.L.R.; MATOS, N.B.N. 2017. Effects of protein-energetic supplementation frequency on growth performance and nutritional characteristics of grazing beef cattle, *Tropical Animal Health and Production*, 1-7. 2017.

SILVA-MARQUES, R.P.; ZERVOUDAKIS, J. T. ; HATAMOTO-ZERVOUDAKIS, L. K. ; CABRAL, L. S. ; ALEXANDRINO, E. ; JOSE NETO, A. ; SOARES, J. Q. ; MELO, A. C. B. . Suplementos múltiplos para novilhas de corte a pasto no período seco. **Semina. Ciências agrárias (online)**, v. 36, p. 525-540, 2015.

- SIQUEIRA, G. R.; MORETI, M.H.; FERNANDES, R. M.; et al. Associação Pasto-confinamento na produção intensiva de carne bovina. In: ZERVOUDAKIS, J. T.; SILVA, R. P.; JUNIOR, M. F. D. et al. II SIMBOV MT (II Simpósio Matogrossense de Bovinocultura de Corte). 2ª ed. Cuiabá, v.2. Anais... p.151-176, 2013.
- VALADARES FILHO, S.C.; MARCONDES, M.I.; CHIZZOTTI, M.L.; PAULINO, P.V.R. **Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados**– BR CORTE. 2.d. Viçosa:UFV, 2010. 193p.
- WALTER, L. J.; MCALLISTER, T. A.; YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A.; HE, M.; MCKINNON, J. J. Comparison of wheat or corn dried distillers grains with solubles on rumen fermentation and nutrient digestibility by feedlot heifers. Journal of Animal Science. n. 90, p. 1291–1300, 2012.
- ZERVOUDAKIS, J. T.; DE PAULA, N. F.; POSSAMAI, A. J.; SILVA MARQUES, R.P.; FREIRIA, L.B.⁴, CERVELATI, K.F.; SOARES, J.Q., FARIA, D.A. **Atualidades sobre suplementação animal em pastejo**. In: VIII SIMFOR. Simpósio Estratégico de Manejo da Pastagem. Viçosa-MG. 2014.
- ZERVOUDAKIS, J.T.; SILVA, L.C.R.P.; SILVA, R.P. et al. **Resíduos Agroindustriais na suplementação de bovinos a pasto**. In: Anais do VII SIMPEC – SIMPÓSIO DE PECUÁRIA DE CORTE. Lavras-MG. p. 237-313. 2011.
- ZERVOUDAKIS, J. T.; SILVA, L. C. R. P.; SILVA, R. P.; JOSÉ NETO, A.; WERNER, J. F. K.; SILVA, R. G. F. Otimização do Desempenho de Bovinos por meio da Suplementação à Pasto. In: ZERVOUDAKIS, J. T.; JOSÉ NETO, A.; SILVA, R. P.; SILVA, L. C. R. P.; SILVA, R. G. F. WERNER, J. F. K. **I SIMBOV MT (I Simpósio Matogrossense de Bovinocultura de Corte)**. 1ª ed. Cuiabá, v.1, p.151-189, 2011.

DESMAMA PRECOCE E SUPLEMENTAÇÃO VISANDO AUMENTOS NA PRODUTIVIDADE

Josiane Fonseca Lage

Supervisora de P&D, Bovinos de Corte, Trouw Nutrition Brasil, Campinas-SP

O Brasil possui em torno de 74 milhões de fêmeas em idade reprodutiva e produz apenas 45 milhões de bezerros por ano (Baruselli & Vieira, 2015). Portanto, a utilização de práticas de manejo que melhorem a eficiência dos sistemas de produção considera, principalmente, o incremento dos índices reprodutivos de um rebanho de corte. Tais práticas devem ser realizadas com o foco em aumento na porcentagem de prenhez do rebanho e diminuição do intervalo entre o parto e a concepção.

Para uma vaca ciclar e emprenhar torna-se necessário atender através dos nutrientes ingeridos, uma escala de importância em sua exigência nutricional, que são: manutenção, lactação, crescimento e, por fim, reprodução. A lactação é um dos fatores que demanda muita energia da vaca e um dos principais causadores da baixa taxa reprodutiva dos rebanhos.

EFICIÊNCIA REPRODUTIVA

A habilidade de fazer a vaca se tornar gestante após o parto, o mais rápido possível é um dos principais fatores que contribuem com a eficiência reprodutiva. O aumento do intervalo entre partos ou o anestro, contribuem para uma redução na produtividade do rebanho, diminuindo o número de bezerros nascidos, o que afeta a produção de carne e a disponibilidade de fêmeas para realizar a reposição do rebanho. Uma fêmea bovina mantida em condições favoráveis tem o potencial de produzir um bezerro por ano, entretanto, depende da nutrição, genética, manejo, dentre outros fatores que contribuem com o aumento da produtividade.

Vacas criadas em condições de pastos tropicais, como é o caso do rebanho brasileiro, possuem alta incidência de anestro pós-parto, o que resulta em aumento do intervalo parto-concepção

e, consequentemente, redução do desempenho reprodutivo. No Brasil, a média nacional do intervalo entre partos está em 17 meses. Esses dados reforçam que o anestro pós-parto é o principal fator que interfere no desempenho reprodutivo de bovinos manejados em condições tropicais (Baruselli & Vieira, 2015).

Uma pesquisa da Universidade da Flórida (Rae et al., 1993) mostrou que as vacas com escores de condição corporal baixos ($\leq 4,0$) têm redução de 30% na taxa de prenhez em comparação com vacas em condição corporal ideal (5,0 a 6,0). As vacas com condição corporal baixa quando emprenham, geralmente ocorre no final da estação de monta, resultando em bezerros nascendo tardiamente no ano seguinte, tendo efeito mais evidente em vacas jovens, as quais possuem maior requerimento nutricional para sustentar a lactação e seu próprio crescimento. Isso porque muitas vezes os animais são mantidos com dietas de baixa concentração energética que impactam em: tempos maiores em balanço energético negativo e redução na condição corporal para valores abaixo dos considerados limitantes (menor ou igual a 4 - considerando escala de 1 a 9).

A interação do aleitamento entre a vaca e o bezerro é crítico em prolongar o anestro pós-parto em vacas de corte. A amamentação atrasa o início do estro em vacas de corte (Graves et al., 1968; Short et al., 1974; Laster, et al., 1973), e a frequência e intensidade do aleitamento afetam o comprimento do intervalo de parto, independentemente do estado nutricional da vaca (Wettemann et al., 1978).

Para que a vaca se recupere rapidamente após o parto e volte a ciclar para emprenhar na estação de monta, precisamos diminuir as necessidades nutricionais das mesmas, que deverá ser feita pela técnica da desmama precoce dos bezerros. Dessa forma, a vaca estará cessando a produção de leite (Figura 1). Rapidamente a vaca volta a ciclar, melhorando dessa forma, a taxa de prenhez do rebanho.

Portanto, a desmama precoce é uma técnica de manejo que pode diminuir em grande parte a exigência nutricional da vaca, uma vez que a mesma, cessa a lactação. Mais especificamente, se o

bezerro é desmamado aos 60 dias de idade, a exigência nutricional de energia da vaca declina em 37%. Se o bezerro é desmamado aos 6 meses de idade, a exigência nutricional de energia da vaca declina em 18% (Mathis and Encinians, 2005).

Moojen et al. (1994) destaca que o desmame precoce de bezerros é uma das principais alternativas de manejo de bovinos de corte que pode potencializar a eficiência reprodutiva da vaca e intensificar o sistema de produção de ciclo completo.

Figura 1 - Exigência de energia para manutenção e lactação de vacas Angus com média de 500 kg com produção média de 8 kg de leite/dia no pico de lactação entre dias específicos de parto e desmama (adaptado de NRC, 1996).

O grande foco do uso da técnica da desmama precoce são as vacas com baixas taxas de fertilidade. Geralmente essa categoria refere-se principalmente a primíparas, podendo considerar também as vacas com escore corporal muito baixo e vacas em pastos com condição de forragem ruim. Outro ponto da desmama precoce é possibilitar abater as vacas de descarte que

estariam com bezerro ao pé antes da entrada da seca, devido ocorrer uma rápida recuperação na sua condição corporal.

Assim que as vacas de desmame precoce deixam de amamentar, sua ingestão alimentar diminui em até 30%. Resultados de pesquisa (Arthington e Minton, 2004) demonstraram que vacas de primeira cria quando desmamam seus bezerros precocemente exigem cerca de 50% menos NDT para atingir e manter condição corporal 5,0 em comparação com novilhas lactantes de mesma idade e condição corporal. Esta redução voluntária no consumo de matéria seca tem implicações práticas importantes para o produtor de recria, visto que a vaca pode manter ou ganhar peso corporal, com quase 30% menos de forragem. Isso significa que o produtor pode usufruir de uma maior taxa de lotação na fazenda, melhorando a eficiência de produção na propriedade e consequentemente a rentabilidade do sistema, uma vez que libera áreas no período seco do ano para outras categorias do rebanho.

Portanto, a desmama precoce de bezerros de corte é uma prática de manejo que visa diminuir a exigência de nutrientes da vaca do terço médio ao final da lactação (Figura 2), portanto, melhorando a condição corporal da vaca e aumentando a capacidade de lotação do pasto (Peterson et al., 1987; Myers et al., 1999 a,b) devido a redução no consumo voluntário de forragem, contribuindo, dessa forma, com o aumento na taxa de prenhez e diminuição do período de anestro pós-parto (Houghton et al., 1990; Arthington and Kalmbacher, 2003; Arthington and Minton, 2004).

Figura 2 - Influência da desmama precoce na exigência de energia da vaca.

DESMAMA PRECOCE E NUTRIÇÃO DOS BEZERROS

A desmama precoce é uma técnica antiga, amplamente estudada com foco em aumentar as taxas de concepção e encurtar o período de anestro pós-parto em bovinos de corte, quando realizada antes ou durante o início da estação de monta (Ray et al., 1973; Bellows et al., 1974; McKee et al., 1977; Smart, 1977; Clemente et al., 1978).

A técnica da desmama precoce baseia-se na separação do bezerro e da vaca, possibilitando que a energia que seria destinada à lactação seja redirecionada para reprodução, uma vez que a matriz cessa a produção de leite. Esta técnica refere-se à separação do bezerro de sua mãe em média aos 70 - 90 dias de idade. Esta idade é utilizada para assegurar que o processo de desmame precoce tenha a oportunidade de influenciar o desempenho reprodutivo da vaca. Bezerros desmamados aos cinco meses de idade podem ser erroneamente referidos como desmamados precocemente, sendo este um termo impróprio, pois a vaca irá ter baixo benefício reprodutivo dentro da estação de

monta. Quando o bezerro é desmamado nesta idade, a estação de monta provavelmente já terminou ou está quase no fim. Entretanto, alguns produtores utilizam a desmama nesta idade (5 meses) para os bezerros oriundos de vacas que serão descartadas na estação.

Para obter a máxima eficiência, a desmama precoce deve sempre ocorrer durante a estação de monta, principalmente no início da estação de monta, pois assim há mais chances da matriz engravidar. Com isso, a fêmea supera o balanço energético negativo mais rapidamente e reduz o impacto em sua perda de massa corporal pós-parto. Assim, cessa a produção de leite e drena a energia para a reprodução, elevando dessa forma, os índices de prenhez do rebanho. Arthington e Kalmbacher (2003), reportaram que vacas de primeira cria com bezerros desmamados precocemente atingiram taxa de prenhez superior e intervalo entre partos 21 dias mais curto em comparação com contemporâneas desmamando bezerros no período normal (89,5 contra 50,0% prenhas).

Um outro ponto a destacar, para implantação da desmama precoce, seriam as fazendas que produzem animais cruzados. Considerando a desmama convencional, o que normalmente ocorre é um descarte desta fêmea no final do período seco do ano, após uso de suplementação, uma vez que ela precisa estar com bom acabamento para que o produtor receba um melhor valor na @. Dessa forma, considera-se a fêmea F1 como “matriz de uma ou duas crias”. A opção pela fêmea de filho único garante quase que, simultaneamente, dois produtos de valor agregado: um bezerro cruzado e uma vaca precoce com sangue taurino, o que atende as expectativas do mercado que procura uma carne de qualidade. A desmama precoce é uma tecnologia para abater mais rapidamente essa fêmea, sem prolongar a sua terminação até o final do período seco do ano, uma vez que com a remoção do bezerro, a fêmea tende a recuperar o escore de condição corporal. Outro ponto importante, é que esta fêmea cruzada, possui alta exigência nutricional principalmente quando está em lactação. Com uso da desmama precoce, reduz-se a exigência nutricional desta fêmea,

podendo-se usufruir de uma maior taxa de lotação na fazenda, melhorando a eficiência de produção na propriedade.

A desmama precoce favorece a recuperação da matriz, porém deve-se ter cuidado para não prejudicar o futuro desenvolvimento produtivo do bezerro. Quatorze entre vinte estudos (Arthington, 2003) mostraram que a desmama precoce (90 a 120 dias de idade) proporcionou peso de desmama maior ou similar em relação a desmama natural efetuada em 201 a 240 dias. Dez entre quatorze estudos relatados por Waterman et al., (2012), mostraram melhor conversão alimentar de bezerros desmamados precocemente (90 a 120 dias) em relação a desmama habitual (201 a 240 dias). O crescimento de bezerros desmamados precocemente é altamente eficiente (Peterson et al., 1987) e podem levar a uma melhora no desempenho em confinamento (Myers et al., 1999b) e qualidade da carcaça (Myers et al., 1999a).

No Brasil, utiliza-se basicamente duas técnicas para se realizar a desmama precoce em bovinos de corte. Uma considera a separação abrupta do bezerro e da vaca, sem prévia adaptação a uma ração concentrada. A outra se refere à separação do bezerro da vaca, no momento em que o bezerro está adaptado a um consumo de ração em aproximadamente 700 a 800 g/cab/dia.

A técnica não pode ser prejudicial ao bezerro, uma vez que o alimento líquido (leite) será retirado de sua dieta. Assim, recomenda-se que o bezerro deve estar adaptado a consumir concentrado antes de ser desmamado. Embora o leite atenda as exigências do bezerro para determinado crescimento, os nutrientes ingeridos estão abaixo do potencial de ganho desses animais. Foi observado por ROBISON et al. (1978) que o leite supriu apenas no primeiro mês as necessidades de manutenção e crescimento, e que a partir do quarto mês de vida do bezerro, o leite não atende suas exigências, necessitando após essa idade uma suplementação ou consumo de forragem para conseguir complementar sua dieta e atender suas exigências para ganho de peso.

As rações a serem utilizadas para fornecimento aos bezerros em um programa de desmama precoce devem ser ricas em nutrientes de qualidade, atrativas, com aditivos que atuam na imunidade do animal e extremamente palatáveis. No sistema de desmama precoce, com adaptação do bezerro a uma ração antes de ser desmamado, a recomendação é o início de fornecimento aos 20 dias de idade, de uma ração especializada para esta fase, com aproximadamente 25% de PB, em sistemas de creep-feeding. Dessa forma, o animal começa a ingerir pequenas quantidades da ração que complementa a sua dieta, que neste período é apenas o leite da vaca, pois o animal ainda é muito jovem e não ingere pasto nesta idade.

A desmama dos animais deve ser realizada quando os mesmos atingirem um consumo de 800 g de ração por dia. Um consumo adequado de ração durante a remoção do bezerro/vaca permite que o animal esteja adaptado a este tipo de manejo e a um consumo de nutrientes adequado ao seu crescimento, o que não acarreta em stress e redução em desempenho desse animal até completar os 7-8 meses de idade. Recomenda-se que o manejo de desmama (separação do bezerro x vaca) seja realizado da mesma forma que o manejo implantado na fazenda para a desmama convencional. Após a desmama, deve-se aumentar de forma gradativa o fornecimento de ração, fornecendo-se em média 1 kg/dia, de um produto especializado com aproximadamente 22% de PB, até os 210 dias de idade. Dessa forma, utilizando-se rações de qualidade, consegue-se um bezerro com média de 30 kg de ganho adicional, em relação a um bezerro contemporâneo (filhos de vacas da mesma categoria, ex.: primíparas), que não estaria dentro de um protocolo de desmama precoce. A quantidade de ração a ser fornecida após a desmama (por exemplo, acima de 1 kg/dia) irá depender do objetivo do produtor com o desempenho dos animais na fase de cria, ou seja, o peso do animal aos 210 dias de idade.

O aumento em taxa de crescimento para bezerros desmamados precocemente são primariamente devido a um

aumento em deposição de gordura na carcaça. Adipócitos intramusculares em bovinos de corte continuam a acumular até aproximadamente os 250 dias de idade (Du et al., 2013). A desmama precoce em bovinos de corte promove aumento de marmoreio e melhora o grau de qualidade das carcaças, quando comparados com bezerros desmamados convencionalmente (Myers et al., 1999a; Shike et al., 2007).

Smith and Crouse (1984) demonstraram que a glicose contribui com 50 a 75% das unidades acetil para a lipogênese no depósito de gordura intramuscular, quando avaliados in vitro. Portanto, a fermentação de amido, resulta em elevados níveis de glicose e insulina, que são componentes chave que contribuem com o desenvolvimento do adipócito intramuscular em bezerros jovens (100 a 200 dias de idade), alimentados com concentrados (Schoonmaker et al., 2003). Portanto, a desmama precoce e a alimentação com concentrado pode permitir quantidades apreciáveis de deposição de gordura intramuscular que ocorre no início do período de alimentação. Isto pode aumentar o grau de qualidade independente da idade ao abate (Schoonmaker et al., 2001).

Em animais, o crescimento fetal restrito causado pela inapropriada nutrição materna, impactam o crescimento e composição corporal da progênie (Wu et al., 2006). O desenvolvimento fetal e pós-natal coincide com duas comuns estratégias utilizadas na indústria da carne bovina: suplementação e desmama precoce. Bezerros desmamados precocemente tendem a ter maior peso corporal no tempo da desmama convencional e aumento no escore de marmoreio comparado com bezerros desmamados de forma convencional, quando são alimentados com dietas concentradas (Thrift and Thrift, 2004), isso porque a melhora na nutrição irá suportar a adipogênese (Du et al., 2013). Entretanto, pouco ainda é conhecido sobre a relação entre desmama precoce e a influência na nutrição fetal.

Estes resultados são suportados por outros trabalhos que observaram aumento na deposição de gordura subcutânea

(Schoonmaker et al., 2004; Schlickau et al., 2005) e gordura intramuscular (Schlickau et al., 2005) avaliados via ultrassom em novilhos desmamados precocemente alimentados com dietas de alto concentrado, comparados com novilhos desmamados convencionalmente durante a fase de crescimento. Pesquisas também demonstraram que bezerros desmamados precocemente foram mais jovens ao abate comparados com bezerros desmamados de forma convencional (Story et al., 2000; Schoonmaker et al., 2004; Shike et al., 2007).

O peso corporal de novilhos e o ganho médio diário de peso entre desmama precoce (78 ± 11 dias de idade) e desmama convencional são maiores para animais desmamados precocemente, considerando o tempo da desmama convencional (186 ± 11 dias de idade; Shoup et al., 2015). Além disso, bezerros desmamados precocemente (78 dias) tiveram maior peso de carcaça quente, rendimento de carcaça, espessura de gordura subcutânea, área de olho de lombo e escore de marmoreio comparados a bezerros desmamados de forma convencional, 186 dias (Shoup et al., 2015).

Concluindo, numerosos estudos com desmama precoce tem sido conduzidos no passado com bovinos de corte (Green and Buric, 1953; Fluharty et al., 2000; Schoonmaker et al., 2003), evidenciando que bezerros desmamados precocemente tem ganhos mais eficientes em relação aos bezerros desmamados de forma convencional (Myers et al., 1999b; Wertz et al., 2002).

É importante ressaltar que o sucesso da adoção da desmama precoce em uma fazenda, dependerá da rápida ingestão de produtos pelos animais e conseqüentemente do ganho dos animais em cada fase, o qual será dependente do manejo adotado na fazenda e da genética do animal. O período que o bezerro passará consumindo os produtos da desmama precoce será relativo ao período em que a vaca ficará ao redor do cocho. Portanto, devemos estar atento a estrutura necessária, como cochos de creep-feeding bem dimensionados (20 cm/cabeça); estrutura coberta para evitar que a ração fermente em períodos de

chuva e seja refugada pelo bezerro; localização ao lado do cocho de suplemento das vacas; e a estrutura não deve ser localizada distantes do bebedouro.

TESTE EM FAZENDA – DESMAMA COM BEZERRO ADAPTADO AO CONSUMO DE RAÇÃO

O projeto foi conduzido em uma fazenda comercial, localizada próximo a Uberaba, em Minas Gerais, que possui um rebanho comercial da raça Nelore com aproximadamente 1000 vacas. O objetivo principal foi utilizar o protocolo de desmama precoce com prévia adaptação ao concentrado, em filhotes de **primíparas**, com foco no aumento da fertilidade desta categoria. A fazenda começa a estação de monta em outubro com término em fevereiro, sendo utilizadas as fêmeas que pariram no início da estação de parição.

Foram utilizadas 102 fêmeas, com bezerros cruzados (Angus x Nelore) e também bezerros da raça Nelore. A fazenda faz uso de protocolo de IATF, com touros de repasse. O protocolo é focado em consumo – quando o bezerro atinge 800 g/dia de consumo de ração, pode ser desmamado. Em dezembro foi desmamado o lote de animais cruzados, que apresentam um consumo mais rápido de ração em relação a animais da raça Nelore, que foram desmamados no início de janeiro. Após a separação da vaca/bezerro, as mesmas apresentam um cio fértil em aproximadamente 10-12 dias, com grandes chances de voltar a engravidar, o que foi comprovado neste projeto.

O histórico de prenhez de primíparas na fazenda era em média 55%, sendo que com a adoção do protocolo de desmama precoce da empresa, este número aumentou para 95,1%, ou seja, de 102 fêmeas avaliadas no protocolo, apenas 5 ficaram vazias após o término da estação.

Além do excelente resultado em prenhez, o protocolo de desmama precoce utilizado é constituído de três produtos que foram formulados para otimizar o ganho de peso dos bezerros, de forma que estes animais apresentem ao final do protocolo (7 meses

de idade) um peso que seja superior aos seus contemporâneos, filhos de primíparas. Bezerros alimentados com o protocolo de desmama precoce com prévia adaptação ao concentrado, apresentam em média 1 @ a mais em relação aos filhos de primíparas que foram alimentados exclusivamente com leite e pasto. Dessa forma, além do ganho em prenhez das fêmeas, o produtor melhorou a eficiência do sistema de produção com bezerros mais homogêneos dentro do rebanho.

REFERÊNCIAS

- ARTHINGTON, J.D. 2003. Aumento da Produtividade em primíparas pela utilização da desmama precoce. In: VII Curso Novos Enfoques na produção e Reprodução de Bovinos, p. 230-233.
- Arthington, J.D., and J.E. Minton. 2004. The effect of early calf weaning on feed intake, growth, and postpartum interval in thin, Brahman-crossbred primiparous cows. *Prof. Anim. Sci.* 20:34-38.
- Arthington, J.D. and R.S. Kalmbacher. 2003. Effect of early weaning on performance of threeyear-old, first calf beef heifers and calves reared in the subtropics. *J. Anim. Sci.* 81:1136-1141.
- Baruselli, P.S.; Vieira, L.M. 2015. Eficiência reprodutiva: conceitos e desafios. *Anais: Encontro dos Encontros, Scot Consultoria.* p.189.
- Bellows, R. A., R. E. Short, J. J. Urlick and O. F. Pahnish. 1974. Effects of early weaning on postpartum reproduction of the dam and growth of calves born as multiple or single. *J. Anim. Sci.* 39:589.
- Clemente, P. F., R. E. Short, R. B. Staigmiller and R. A. Bellows. 1978. Effect of precalving nutrition, early weaning, C B-154, and antiprolactin treatment on postpartum interval length in beef cows. *J. Anim. Sci.* 47 (Suppl. 1):351.
- Du, M., Y. Huang, A. K. Das, Q. Yang, M. S. Duarte, M. V. Dodson, and M.-J. Zhu. 2013. Meat science and muscle biology symposium: Manipulating mesenchymal progenitor cell differentiation to optimize performance and carcass value of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 91:1419-1427. doi:10.2527/jas.2012-5670.

- Graves, W.E.; J.W. Lauderdale. E.R. Hauser and L.E. Casida. 1968. Relation of postpartum interval to pituitary gonadotropins. ovarian follicular development and fertility in beef cows (Effect of suckling and intmal to breeding). Univ. of Wisconsin Res. Bull. n.270, pp. 23-26.
- Mathis, C.P., Encinias, M. 2005. Early weaning beef calves. http://aces.nmsu.edu/pubs/_b/B126/welcome.html.
- McKee, M., K. G. Kimple and L. Corah. 1977. Early weaning and creep feeding for dryiot calves. J. Anim. Sci. 45 (Suppl. 1):47.
- Moojen, J.G.; Restle, J.; Moojen, E.L. 1994. Efeito da época de desmama e da pastagem no desempenho de vacas e terneiros de corte. 1. Desempenho das vacas. Ciência Rural, v.24, n.2, p.393-397.
- Myers, S.E., D.B. Faulkner, F.A. Ireland, L.L. Berger, and D.F. Parrett. 1999a. Production systems comparing early weaning to normal weaning with or without creep feeding for beef steers. J. Anim. Sci. 77:300–310.
- Myers, S.E., D.B. Faulkner, F.A. Ireland, and D.F. Parrett. 1999b. Comparison of three weaning ages on cow-calf performance and steer carcass traits. J. Anim. Sci. 77:323–329.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requeriment of beef cattle. Washington D.C.: National Academy Press, 1996.
- Laster, D.B.. H.A. Glirnp. L.V. Cundiff and K. E. Gregory. 1973. Factors affecting dystocia and the effects of dystocia on subsequent reproduction in beef cattle. J. Anim. Sci. 36:695.
- Rae, D.O., W.E. Kunkle, P.J. Chenoweth, R. S. Sand, and T. Tran. 1993. Relationship of parity and body condition score to pregnancy rates in Florida beef cattle. Theriogenology 39:1143-1152.
- Short, R.E., R.D. Randel and R.A. Bellows. 1974. Factors affecting reproduction in the postpartum cow. J. Anim. Sci. 39:226 (Abstr.).
- Smart, Lewis I., 1977. Early weaning of beef calves. Livestock Producers Day Rep., Louisiana State Univ., Baton Rouge.
- Peterson, G. A., T.B. Turner, K. M. Irvin, M.E. Davis, H. W. Newland, and W. R. Harvey. 1987. Cow and calf performance and economic considerations of early weaning of fall-born beef calves. J. Anim. Sci. 64:15–22.

- Ray, D. E., C. B. Roubicek, A. Lane, C. B. Theruer and D. D. McGinty. 1973. Supplementation or early weaning with beef heifers. *J. Anim. Sci.* 36 : 1203 (Abstr.).
- Schlickau, E. K., T. T. Marston, J. Brethour, M. E. Dikeman, and J. A. Unruh. 2005. Effects of early weaning on feedlot performance of bulls and steers. <http://www.ksre.ksu.edu/historicpublications/pubs/SRP943.pdf>. (Accessed 29 August 2014.) p. 69–73.
- Schoonmaker, J.P., M.J. Cecava, F.L. Fluharty, H.N. Zerby, and S.C. Loerch. 2004. Effect of source and amount of energy and rate of growth in the growing phase on performance and carcass characteristics of early- and normal-weaned steers. *J. Anim. Sci.* 82:273–282.
- Shike, D. W., D. B. Faulkner, M. J. Cecava, D. F. Parrett, and F. A. Ireland. 2007. Effects of weaning age, creep feeding, and type of creep on steer performance, carcass traits, and economics. *Prof. Anim. Sci.* 23:325–332.
- Shoup, L.M., Kloth, A.C., Wilson, T.B., González-Peña, D., Ireland, F.A., Rodriguez-Zas, S., Felix, T.L. and Shike, D.W. 2015. Prepartum supplement level and age at weanig: I. Effects on pre- and postpartum beef cow performance and calf performance through weaning. *J. Anim. Science.* 93:4926-4935.
- Smith, S. B., and J. D. Crouse. 1984. Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. *J. Nutr.* 114: 792–800.
- Story, C.E., Rasby, R.J., Clark, R.T. and Milton, C.T. 2000. Age of calf at weaning of spring-calving beef cows and the effect on cow and calf performance and production economics. *J. Anim. Science.* 78:1403-1413.
- Thrift, F. A., and T. A. Thrift. 2004. Review: Ramifications of weaning spring- and fall-born calves early or late relative to weaning at conventional ages. *Prof. Anim. Sci.* 20:490–502.
- Waterman, R.C., T.W. Gery, J.A. Paterson, and R.J. Lipsey. 2012 - Early weaning in Northern Great Plains beef cattle production systems: I. Performance and Reproductive response in range beef cows. *Lives. Sci.* 148: 26-35.
- Wettemann, R.P., E.J. Turman, R.D. Wyatt, and R. Totusek. 1978. Influence of suckling intensity on reproductive performance of range cows. *J. Anim. Sci.* 47:342.

MODELOS DIETÉTICOS PARA BEZERROS DE CORTE LACTENTES EM SISTEMAS OTIMIZADOS DE PRODUÇÃO DE CARNE BOVINA¹

Mário Fonseca Paulino², Edenio Detmann³, Luciana Navajas Rennó⁴, Ághata Elins Moreira da Silva⁵, Deilen Sotelo Moreno⁶, Marcos Rocha Manso⁵, Victor Valério de Carvalho⁶

¹ Apoio: CNPq e FAPEMIG.

² Eng^o-Agrônomo, D.Sc., Professor Titular, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa. Pesquisador do CNPq mpaulino@ufv.br

³ Zootecnista, D.Sc., Professor Associado, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa. Pesquisador do CNPq detmann@ufv.br

⁴ Médica Veterinária, D.Sc., Professora Adjunta, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa. Pesquisador do CNPq lucianarenno@ufv.br

⁵ Zootecnista, Mestrando, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa

⁶ Zootecnista, Doutorando, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa

A relação mãe e cria é intensa durante a amamentação, com fins de proteção da prole e sua alimentação. Os sistemas de produção de carne bovina, na tentativa de conciliar aspectos biológicos com interesses econômicos, geram modelos dietéticos diversos em termos de oferta e ou privação de leite aos bezerros e de alternativas para complementação de suas exigências nutricionais.

Neste contexto, pode-se estabelecer a ordenação da bovinocultura, tendo como referência o destino do leite produzido pela matriz em: bovinos de leite puros, sistemas que integram produção de leite e carne e bovinocultura de corte especializada. Assim, o produtor ao planejar seu sistema de produção de maneira sistêmica, deve eleger o modelo que enseja os melhores indicadores produtivos e econômicos dentro das suas condições e do mercado em que está inserido.

O aspecto comum aos modelos é o fornecimento do colostro. O colostro é um alimento de grande importância para nutrição dos bezerros, além de garantir a transferência de imunidade passiva para os mesmos, uma vez que estes ainda não são capazes de produzir grande parte das suas defesas imunológicas, sendo dependentes da imunidade passiva que é adquirida nas primeiras horas de vida através da ingestão de colostro.

REBANHOS LEITEIROS PUROS

Nos rebanhos puros se destina a produção de leite prioritariamente para o homem e para as bezerras de reposição. Portanto, na tentativa de aproveitamento do macho de origem leiteira as estratégias se contrastam pela menor ou maior restrição láctea.

Em muitas propriedades brasileiras ainda se preserva a cultura de descarte dos machos de origem leiteira logo após o nascimento. Assim, passam a ter a renda totalmente dependente da produção de leite, tornando-se reféns dos preços praticados pelas indústrias de laticínios.

O uso de machos de origem leiteira para produção de carne pode contribuir como fonte de renda extra para o produtor de leite. Porém, as altas taxas de mortalidade e o custo relativamente elevado da alimentação são os principais limitantes na criação de bezerros oriundos de rebanhos de leite puros. Existem vários subsistemas de incorporação dos bezerros de origem leiteira na produção de carne com características distintas em função das diferenças de idade e peso ao abate, sistema de alimentação, tipo e coloração da carne.

Os esquemas de aleitamento guardam relação com os desempenhos programados. O convencional, com utilização de leite em quantidade restrita e fixa de 8 a 10% do peso corporal (PC), enseja ganho de peso moderado, de cerca 300 g / dia. O intensivo, com fornecimento de dieta líquida em volume correspondente a 16 a 20% do PC ao nascimento, divididos em duas refeições diárias, projeta taxa de crescimento de 700g ou mais. Ainda, pode-se usar maior volume no início da vida com redução no volume nos meses subsequentes.

Os modelos dietéticos são diversos, envolvendo dietas líquidas e ou dietas sólidas.

Dietas líquidas: bezerros jovens com carne branca

Uma alternativa para aproveitar os machos oriundos da atividade leiteira é a sua criação, com dieta líquida, para produção de carne branca. Entre as possibilidades, destacam-se a produção de bezerros leiteiros jovens comercializados com até três semanas de idade, ou com peso de cerca de 70 kg; e animal alimentado com dieta líquida a base de derivados do leite até atingir o peso corporal ao abate de até sete arrobas com coloração branca de carne.

Após a colostragem, além da opção do leite cru, enumeram-se como possibilidade dietética leite de transição (que ainda não pode ser comercializado), excesso de colostro (natural ou fermentado), seguidas por leite integral cru, soro de leite líquido, sucedâneos de leite, com usos exclusivos ou associados ao longo do ciclo. No Brasil acriação de bezerros jovens alimentados somente com dieta líquida é uma atividade onerosa, portanto, restringe-se a nichos específicos e seletivos.

Dietas sólidas em confinamento: novilho precoce leiteiro com carne rosa

Há situações em que está previsto o fornecimento de dietas que contenham a participação de concentrados e, eventualmente, também de forragens.

Uma alternativa ao produtor é produção de novilho precoce leiteiro, em que o animal é alimentado com dieta líquida até 6 a 8 semanas, passando a receber dietas com alta porcentagem de grãos ou mesmo dietas exclusivas de grãos, em confinamento. Este modelo permite diminuir o tempo que o animal fica em terminação, gerando carcaças com cerca de dez arrobas e apresenta carne mais avermelhada.

Visualiza-se um destino mais nobre que o descarte juvenil e uma renda possível ao produtor, estabelecendo sistemas em que não haja competição dos machos por terra, fator limitante na maioria das propriedades que produzem leite. Para tal, descortinam-se eventuais parcerias entre produtores locais e estímulo a alternativas gerenciais

cabíveis, com o intuito de ofertar produto com características e preços absorvíveis pelo mercado regional.

Alternativas tecnológicas para empreendimentos dessa natureza foram delineadas em publicação coordenada por Neiva et al. (2015).

INTEGRAÇÃO PRODUÇÃO DE LEITE E CARNE

Os rebanhos das regiões leiteiras no Brasil Central Pecuário são constituídos predominantemente de animais mestiços produzidos a partir cruzamentos de raças leiteiras europeias com animais zebus, que integram produção de leite e carne; portanto, se distribui o leite entre os bezerros e o ser humano.

A abordagem envolve duas vertentes, uma em que a prioridade do produtor é maximizar a produção de leite e o bezerro macho oriundo das vacas leiteiras é apenas uma opção de aumento da receita da propriedade; outra em que há uma decisão de conduzir sistemas de produção que integram a produção de leite e carne.

No primeiro caso, há certa negligência dos produtores de leite com os machos em seus rebanhos. Normalmente, são animais que recebem baixo aporte de leite durante a fase de cria, conduzida em pasto, sendo desmamados com peso em torno de quatro arrobas (Campos et al., 1985; Tabela 1), e vendidos com nove a dez arrobas para consumo local, auferindo remuneração próxima à de vacas de descarte.

Nos sistemas que integram produção de leite e carne, em situações em que as vacas não descem o leite sem a presença dos bezerros, existe uma série de variações dentro dos esquemas de aleitamento. Em uma tentativa de ordenação pode-se classificar em tradicional, em que a cria mama durante toda lactação ou na maior parte dela, e o controlado, em que se varia o tempo de oferta e a maneira de acesso ao leite. Alguns esquemas de aleitamento controlado são registrados a seguir, como ilustração:

- Os bezerros mamam à vontade em suas mães duas vezes ao dia até os três meses de idade; a partir daí eles mamam apenas em uma das ordenhas.
- Durante os dois primeiros meses de vida deixa-se um teto para o bezerro, na ordenha da manhã, e outro na ordenha da tarde. Nos meses seguintes é permitida a ingestão do leite residual pelos bezerros.
- A oferta do leite ocorre em rodízio dos tetos durante o primeiro mês de vida, sendo oferecido somente o leite residual aos bezerros a partir desta idade.
- Os bezerros mamam na ordenha da manhã apenas o suficiente para estimular a descida do leite, e após a ordenha eles vão para o pasto junto com as mães, sendo separados novamente à tarde.
- Os bezerros mamam nas ordenhas o suficiente para estimular a descida do leite, e após a redução da produção de leite, entre seis e sete meses de lactação, são soltos com as mães até o desmame definitivo.

O sistema vaca de leite / bezerro de corte preconiza a utilização de touros zebuínos na vaca $\frac{1}{2}$ Holandês - Zebu ou, eventualmente, na $\frac{3}{4}$ Holandês - Zebu dependendo das condições da propriedade. Nesse sistema tanto a produção de machos como de fêmeas seria destinada ao rebanho de corte, favorecendo a produção de animais com características favoráveis à produção de carne, a partir de rebanhos leiteiros. Nesse sistema, impõe-se uma restrição láctea moderada ao bezerro, ensejando pesos a desmama acima de seis arrobas ((Ruas et al., 2007; Tabela 1).

Derivações de sistemas de dupla função podem potencializar a produção de leite e de bezerro de qualidade, sinergicamente. O uso de vacas mestiças seis meses em ordenha e três meses amamentando o bezerro com o desmame realizado aos nove meses permite transformar a menor produção de leite no terço final da lactação em bezerros com alto peso a desmama. Modelos dietéticos delineados associando tempo de ordenha e período de oferta de 1 kg/dia concentrado de acordo com a idade

do bezerro ensejam peso a desmama de até nove arrobas (Menezes et al., 2015; Tabela 1).

Tabela 1 - Desempenho de bovinos em fase de cria sob sistemas diversos ¹

Sistema	Peso corporal final (kg)	Fonte
Rebanhos mestiços com prioridade para leite	135,0	Campos (1985)
Vaca de leite/bezerro de corte de qualidade	189,2	Ruas et al. (2007)
Sistemas com duplo propósito ²		Menezes et al. (2015)
Ordenha por 9 meses :		
Sem concentrado	200,0	
Concentrado de 3-6 meses	242,0	
Concentrado de 6-9 meses	210,0	
Ordenha por 6 meses :		
Concentrado de 3-6 meses	258,0	
Concentrado de 3-9 meses	270,0	

¹Dados agregados; para acessar dados individualizados consultar as referências bibliográficas.

²Período de oferta de 1kg/dia de concentrado, de acordo com a idade do bezerro, em meses.

Uma vez que os partos nos rebanhos leiteiros ocorrem ao longo do ano, a produção racional de bezerros de origem leiteira contribui para oferta mais uniforme da carne bovina.

Informações sobre outras características de desempenho deste padrão de animal foram delineadas por Paulino et al. (2008).

PRODUÇÃO DE CARNE ESPECIALIZADA

Na bovinocultura de corte propriamente dita a criação de bezerros ao pé da vaca predomina. Assim, o bezerro permanece com a mãe continuamente, podendo mamar várias vezes ao dia, sem restrição láctea. Entretanto, os ajustes dos sistemas produtivos às especificidades regionais e locais, geram sistemas que incorporam restrição láctea de alguma natureza e ou magnitude.

Os modelos dietéticos delineados para atender as exigências nutricionais dos animais envolvem a integração de componentes líquidos e sólidos, representados por colostro, leite, pasto e suplementos, moldados para ambientes biológicos e econômicos específicos.

Modelos dietéticos com restrição láctea

Características intrínsecas ao animal, tais como genótipo, ordem de parição das mães (fêmeas primíparas; vacas velhas), associadas às inerentes ao meio (pastagens nativas, pastos degradados) e àquelas impostas pelo manejo (desmame precoce) moldam a dieta dos animais e impactam seu desenvolvimento.

Sob condições de baixa disponibilidade de matéria seca potencialmente digestível (MSpd), presente em pastagens naturais e em pastos degradados, tanto a produção de leite da matriz como a ingestão de massa forrageira pelos bezerros é limitada. Esta realidade se reflete em pesos à desmama situados entre três e meia e cinco arrobas (Tabela 2).

Por outro lado, sob tais condições a amamentação pode contribuir para inibir a retomada da atividade sexual pós-parto. O desmame precoce constitui alternativa para redução dos requerimentos de vacas onde a densidade de energia e ou nutrientes é baixa. Visualiza-se sua utilização também para antecipação de descartes de matrizes, favorecendo o ajuste da carga animal à disponibilidade de MSpd, bem como para fêmeas primíparas.

Ao mesmo tempo em que o desmame precoce favorece a recuperação da matriz, deve-se ter cuidado para não prejudicar o futuro desenvolvimento produtivo do bezerro. Uma referência seria ajustar o desmame para cerca de 90 dias e ou com peso vivo acima de 100 kg.

Por outro lado, a alimentação do bezerro deve ser criteriosa, pois, esse apresenta limitada capacidade de ingestão e processamento de dieta volumosa, exigindo dieta adequada para crescimento contínuo. A suplementação alimentar de bezerros

pode ser uma estratégia viável para antecipar o desmame desde que a propriedade tenha um manejo condizente (Abreu et al., 2013; Tabela 2).

Apesar do gasto adicional com concentrado, deve-se inserir nos cálculos de viabilidade financeira, além do ganho de peso obtido pelo bezerro, o aumento das taxas reprodutivas e o impacto dessa técnica no gerenciamento global da propriedade.

Mesmo com a incorporação de pastagens cultivadas, a baixa prioridade em seleção para habilidade materna criou ambientes que suportaram pesos a desmama variando entre cinco e seis arrobas (Rosa et al., 1984; Tabela 2).

Modelos dietéticos sem restrição láctea

O peso do bezerro a desmama depende do seu mérito genético para crescimento pré-desmama, da sua adaptabilidade ao meio criatório e da habilidade materna das matrizes.

A produção de leite das vacas é, portanto, fator importante na bovinocultura de corte. A maior parte dos nutrientes ingeridos pelos bezerros nos primeiros meses de vida é suprida pelo leite materno.

Rebanhos constituídos por matrizes que experimentaram seleção para habilidade materna na linha do tempo, criados em pastos administrados sob os fundamentos do manejo para qualidade (Paulino, 1999; Paulino et al., 2006a; Paulino et al., 2014) suportam pesos ao desmame de seis a sete arrobas; eventualmente de oito arrobas (Carvalho et al., 2018; Tabela 2).

Embora o aumento na produção de leite permita aumentar o ganho de peso e o peso a desmama dos bezerros, não se pode esquecer que o aporte nutricional, na maioria dos sistemas baseados em pastejo, é limitante para dar suporte a padrões elevados de produção de leite e garantir condições corporais e fisiológicas adequadas à reprodução.

Esta situação é pior em fêmeas primíparas, pois além da demanda nutricional para manutenção e lactação, apresenta ainda a de crescimento, todas prioritárias em relação à reprodução.

Sob a ótica da exploração da bovinocultura de ciclo curto em regime de pastagens, o ganho de peso contínuo desde a fase de amamentação é fundamental para o sucesso do sistema de produção.

Portanto, em sistemas intensivos de produção de bovinos, nos quais o peso a desmama dos bezerros (as) tem importância primordial, visualiza-se a suplementação dos animais em amamentação, sob o sistema creep feeding, que consiste em fornecimento de alimentos suplementares aos bezerros criados ao pé das matrizes, sem que estas tenham acesso ao suplemento. Neste sistema a dieta dos animais é constituída de leite, pasto e alimento concentrado e possibilita desmama de machos com peso entre oito e dez arrobas (Tabela 2) e fêmeas entre oito e nove arrobas.

A diversidade de sistemas de produção de carne bovina em uso no Brasil gera taxas de crescimento diferenciadas que guardam relação direta com o manejo nutricional utilizado (Tabela 2). Entretanto, suporte tecnológico adicional e sinérgico, envolvendo manejo adequado dos pastos, seleção para precocidade, alocação de estação de monta ajustada ao ambiente local é fundamental (Paulino et al.2006b; Paulino et al.,2008).

Deve-se procurar atentar para particularidades dos sistemas de cria, sempre com foco na produção anual de arrobas por cabeça e por hectare e com a maior margem operacional possível, para minimizar a dependência do ágio do bezerro.

A bovinocultura conduzida sob a lógica do espectro contínuo associada à matriz dietética contempla a fase de cria (Paulino et al. 2010; Paulino et., 2014). O ciclo produtivo se define em função do peso a desmama

Tabela 2 - Desempenho de bovinos em fase de cria sob sistemas especializados ¹

Sistema	Ganho adicional ² (g)	Peso corporal final (kg)	Fonte
Pastagem natural		107,7	Guimarães Filho & Soares (1997)
		136,1; 142,6	Restle et al. (2005)
		135,5; 149,5	Santos et al. (2011)
Pastagem natural, desmama precoce com suplementação		168,7	Abreu et al. (2013)
Pastagem cultivada / mistura mineral, rebanho Nelore sem prioridade de seleção para habilidade materna		156,3 (macho); 143,3 (fêmea)	Rosa et al. (1984)
Pastagem cultivada / mistura mineral, rebanho Nelore com prioridade de seleção para habilidade materna		182,3	Porto et al. (2009)
		194,7	Zamperlini et al. (2006)
		200,3	Zamperlini et al. (2005)
		200,0	Fernandes et al. (2012)
		241,2	Carvalho et al. (2016)
Pastagem cultivada / suplementos múltiplos, rebanho Nelore com prioridade de seleção para habilidade materna	146	219,0	Zamperlini et al. (2005)
	186	228,2	Zamperlini et al. (2006)
	100	197,8	Porto et al. (2009)
	180	218,0	Fernandes et al. (2012)
	214	233,0	Valente et al. (2013)
	164	243,1	Barros et al. (2015)
	200	250,5	Lopes et al. (2014)
	200	275,4	Lopes et al. (2017)
	380	278,0	Martins et al. (2017)
	218	271,8	Carvalho et al. (2018)
		256,0	Manso et al. (2018)

¹Dados agregados; para acessar dados individualizados consultar as referências bibliográficas.

²Em relação ao tratamento recebendo mistura mineral.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A bovinocultura desenvolve-se em ampla diversidade de condições. Para consolidar sua função estratégica no abastecimento do mercado interno e na exportação de carne bovina é necessário adequar os itinerários tecnológicos às especificidades regionais, destacando os ajustes dos modelos dietéticos apropriados à disponibilidade de recursos basais com dinâmica nutricional diferenciada.

A definição da alternativa mais adequada para as condições locais precede aquela dos princípios nutricionais a serem

administrados. É possível oferecer soluções personalizadas (intervenção pontual e qualificada) em modelos dietéticos para os clientes garantindo padrão elevado de precisão, consistência e confiabilidade.

REFERÊNCIAS

- ABREU, U. G. P.; ALMADA NETO, I.; NOGUEIRA, E. et al. Desmame precoce como ferramenta para intensificação da produção de bezerros no Bioma Pantanal. In. II SIMBOV MT, 2013. Cuiabá. Anais... Cuiabá: Print. v. 1, p. 293-309, 2013.
- BARROS, L. V. de.; PAULINO, M. F.; MARQUES, D. E. C. et al. Supplementation of suckling beef calves on a creep-feeding system and nutritional evaluation of lactating beef dams. *Semina Ciências Agrárias* (Impresso), v. 36, p. 3431, 2015.
- CAMPOS, O. F. Criação de bezerros até a desmama. Coronel Pacheco: Embrapa CNPGL, 1985. 77 p. (Documentos, 14).
- CARVALHO, V. V.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E. et al. Suplementos com diferentes níveis de proteína não degradável no rúmen para bezerros de corte lactentes em pastejo. (Submetido). 2018.
- FERNANDES, H. J.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E. et al. Avaliação nutricional, durante a amamentação, de tourinhos em pastejo recebendo suplementação proteica da amamentação à terminação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.41, p.374-383, 2012.
- GUIMARÃES FILHO, C.; SOARES, J. G. G. Desenvolvimento de bezerros desmamados pastejando caatinga e capim buffel e suplementados com feno de leucena. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 32, n. 8, p. 861-864, 1997.
- LOPES, S. A.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E. et al. Supplementation of suckling beef calves with different levels of crude protein on tropical pasture. *Tropical Animal Health and Production*, v. 46, p. 379-384, 2014.
- LOPES, S. A.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E. et al. Evaluation of supplementation plans for suckling beef calves managed on tropical pasture. *Semina Ciências Agrárias*, v. 38, p. 1027, 2017.
- MANSO, M. R.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E. et al. **Suplementação com diferentes regimes proteicos para bezerros de corte lactentes em pastejo.** (Submetido). 2018.

- MARTINS, L. S.; PAULINO, M. F.; RENNÓ, L. N. et al. Creep feeding effects on male Nellore calves influencing behavior and performance of their dams. *Tropical Animal Health and Production*, v. 49, p. 1669-1676, 2017.
- MENEZES, G. C. de C.; VALADARES FILHO, S. de C.; LOPEZ-VILLALOBOS, N. et al. Effect of feeding strategies on weaning weight and milk production of Holstein× Zebu calves in dual purpose milk production systems. *Tropical Animal Health and Production*, v. 47, p. 1095-1100, 2015.
- NEIVA, J. N.M; NEIVA, A. C. G. R.; RESTLE, J.; PEDRICO, A. (eds.) *Do campus para o campo: Tecnologia para produção de carne de bovinos de origem leiteira*. Araguaína: Suprema Gráfica e Editora, 2015. 337p.
- PAULINO, M. F. Estratégias de suplementação para bovinos em pastejo. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 1. 1999, Viçosa. Anais... Viçosa: SIMCORTE, 1999. p.137-156.
- PAULINO, M. F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S.C. Suplementação animal em pasto: energética ou proteica? In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 3, 2006, Viçosa, Anais...Viçosa: SIMFOR, 2006a. p.359-392
- PAULINO, M. F.; ZAMPERLINI, B.; FIGUEIREDO, D. M. et al. Bovinocultura de precisão em pastagens. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 5, 2006, Viçosa, Anais...Viçosa: SIMCORTE, 2006b. p.361-411.
- PAULINO, M. F.; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C. Bovinocultura funcional nos trópicos. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 6, Viçosa, Anais...Viçosa: UFV, p. 275-305, 2008.
- PAULINO, M. F; DETMANN, E.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Bovinocultura programada. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 7, Viçosa, Anais...Viçosa: UFV, p.267-297, 2010.
- PAULINO, M. F; DETMANN, E.; da SILVA, A. G. et al. Bovinocultura otimizada. In: SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 9, Viçosa, Anais...Viçosa: UFV, p.139-164, 2014.
- PORTO, M. O.; PAULINO, M. F.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Fontes de energia em suplementos múltiplos para bezerros Nelore em creep-feeding: desempenho produtivo, consumo e digestibilidade dos nutrientes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, p.1329-1339, 2009.

RESTLE, J.; PACHECO, P.S.; PÁDUA, J.T. et al. Efeitos da taxa de ganho de peso pré-desmama de bezerras de corte e do nível nutricional pós-parto, quando vacas, sobre a produção e composição do leite e desempenho de bezerros. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.1, p.197-208, 2005.

ROSA, A. N.; SILVA, L. O. C.; NOBRE, P. R. C. et al. Resultados gerais do controle de desenvolvimento ponderal das raças zebuínas. *Informe Agropecuário*, v. 10, n. 112, 1984.

RUAS, J. R. M.; FERREIRA, J. J.; MAURER, C. B. et al. Desenvolvimento ponderal de bezerros de vacas F1 HZ submetidas a diferentes sistemas de alimentação e manejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SBZ, 44, 2007, Jaboticabal, Anais... Jaboticabal: SBZ, 2007

SANTOS, S. A.; SOUZA, G. S.; COSTA, C.; et al. Growth curves of Nellore calves reared on natural pasture in the Pantanal. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, p.2947-2953, 2011.

VALENTE, E. E. L.; PAULINO, M. F.; DETMANN, E. et al. Effect of calves supplementation on performance, nutritional and behavioral characteristics of their dams. *Tropical Animal Health and Production*, v. 45, p. 487-495, 2013.

OS DESAFIOS FUTUROS DA SUSTENTABILIDADE NA CADEIA PRODUTIVA DA CARNE BOVINA BRASILEIRA

Guilherme Cunha Malafaia, PhD

*Pesquisador A - Cadeias Produtivas da Carne Bovina - Embrapa Gado de Corte
guilherme.malafaia@embrapa.br*

CONTEXTUALIZAÇÃO DA CADEIA PRODUTIVA DA CARNE BOVINA BRASILEIRA

A cadeia produtiva de carne bovina é um conjunto de componentes interativos, com diferentes sistemas produtivos, fornecedores de serviços e insumos, indústrias de processamento e transformação, distribuição e comercialização de produtos e subprodutos, e seus respectivos consumidores finais.

O processo de produção de carne tem seu início no setor de insumos, que representa as empresas de bens e serviços na área de nutrição, manejo, genética e sanidade. Após, tem-se os setores produtivos, que reúnem as unidades de produção fornecedoras das matérias-primas iniciais. Os frigoríficos transformam a matéria-prima em produto acabado, sendo os responsáveis pelo avanço do produto final em direção ao consumidor por meio da distribuição para o segmento de varejo. A missão desse segmento é disponibilizar o produto final, carne bovina, de forma apresentável, higiênica e em formato útil ao consumidor. Para que este sistema funcione perfeitamente existem alguns elementos de apoio que são essenciais, pois são responsáveis pelo fluxo financeiro e de informações.

O conjunto de agentes que compõe a cadeia produtiva da pecuária de corte brasileira apresenta grande heterogeneidade: de pecuaristas altamente capitalizados a pequenos produtores empobrecidos; de frigoríficos com alto padrão tecnológico, capazes de atender a uma exigente demanda externa, a abatedouros que dificilmente preenchem requisitos mínimos da legislação sanitária.

Parte disso é fruto do ambiente institucional no qual essa cadeia se insere. Aspectos ligados com o comércio exterior, a evolução macroeconômica, a inspeção, a legislação e a fiscalização sanitárias, disponibilidade e confiabilidade de informações estatísticas, legislação ambiental, mecanismos de rastreabilidade e certificação, sistemas de inovação, entre outros, condicionam fortemente a competitividade dessa cadeia agroindustrial.

A referida cadeia produtiva possui posição de destaque no contexto do agronegócio brasileiro, ocupando vasta área do território nacional e respondendo pela geração de emprego e renda de milhões de brasileiros. A cadeia como um todo movimenta em torno de US\$ 167,8 bilhões/ano, gera 7 milhões de empregos, US\$ 16,5 bilhões de impostos agregados e tem faturamento de US\$ 42 bilhões para os frigoríficos.

O rebanho brasileiro é o segundo maior rebanho do mundo, respondendo por 18% do efetivo mundial, atrás apenas da Índia. Segundo a CNA e ABIEC, em 2016, esse rebanho contava 219 milhões de cabeças, cuja maior concentração ocorria, e assim permanece atualmente, na região Centro-Oeste, responsável por 35% da produção; em seguida aparecem as regiões Norte (14,5%), Sul (13,8%), Nordeste (12,7%) e Sudeste (9,3%). Este volume está disperso em uma área de pastagens de aproximadamente 164 milhões de hectares, com uma taxa média de ocupação de 1,2 cabeça/hectare, proporcionando uma taxa média de desfrute de 20%.

No que se refere ao abate médio anual de animais, o volume é de 36,9 milhões de cabeças, com peso médio de carcaça de 247 quilos, rendimento de carcaça entre 52% e 55%, especialmente para animais com sangue Nelore, que é a raça predominante no país.

Estima-se que apenas 4,5 milhões de animais sejam terminados em confinamento. O volume total de abates gerou uma produção de 9,1 milhões de toneladas de equivalente carcaça (tec) em 2016, colocando o Brasil como o maior produtor mundial, responsável por 13,1% da produção global.

Do total produzido no Brasil, 7,38 milhões de tec (80,5%) destinam-se ao mercado interno, onde o consumo *per capita* gira em torno de 35,8 kg/ano. Este consumo fica abaixo apenas da Argentina (67,2 kg/ano), Uruguai (60 kg/ano) e Estados Unidos (42 kg/ano). O restante é exportado sob três formas: *In Natura* (71%), Industrializada (17%) e Miúdos (11%). O Brasil, lidera o ranking das exportações de carne bovina, sendo responsável por 21,1% do mercado mundial do produto. Os principais mercados compradores da carne brasileira *in natura* são: Rússia (26%); Hong Kong (18%) e Venezuela (13%). Já os principais destinos de exportação de carne brasileira industrializada são: União Europeia (UE) (27,53%) e Estados Unidos (EUA) (22%). Finalmente, a maioria dos miúdos é exportada para Hong Kong (45%), seguida da UE (19%).

As projeções para a cadeia da carne bovina brasileira apontam um crescimento de 2,2% na produção entre 2010/11 e 2020/21, passando para 11,3 milhões de toneladas. O consumo brasileiro deve acompanhar de perto o crescimento da produção, visto que a taxa anual projetada é de 2,3%, passando de 7,3 para 9,4 milhões de toneladas por ano.

Quanto às exportações, um quadro favorável tem se configurado para o Brasil, com crescimento anual médio esperado da ordem de 2,6% até 2021. A maior participação de mercados emergentes no comércio internacional de carne bovina contribuiria para isso. Entretanto, espera-se também que as carnes de frango e de suínos apresentem maiores taxas de crescimento anual das exportações nos próximos anos – a taxa anual prevista para carne de frango é de 2,9%, e para a carne suína, de 2,8%.

Essa rápida análise da situação da pecuária de corte mostra que o setor está diante de uma grande oportunidade de crescimento, representada pela expansão do mercado interno, mesmo diante do atual cenário econômico do País, e da demanda externa, com a abertura de novos mercados. Porém, para que o setor consiga aproveitar esse momento ele deverá superar alguns desafios importantes como aumento de produtividade, garantia da

sustentabilidade ambiental e bem estar animal além da qualidade e segurança dos produtos finais.

CONTEXTUALIZAÇÃO DOS SISTEMAS PRODUTIVOS DE PECUÁRIA DE CORTE

No Brasil, existe uma diversidade de sistemas de produção de pecuária de corte. De fato, as fazendas pecuárias estão dispersas em um *continuum* que se inicia com a produção de bovinos para subsistência fazendo uso de práticas muito simples, passando por todos os níveis de incorporação de tecnologia até culminar em sistemas produtivos altamente modernos e tecnificados.

Fases da Produção

A produção da pecuária de corte é caracterizada pelas fases de cria, recria e engorda, as quais são desenvolvidas como atividades isoladas ou combinadas de forma a se complementarem, a saber:

- **Cria:** compreende o período de cobertura até a desmama; compõe-se do rebanho de fêmeas em reprodução, podendo estar incluída a recria de fêmeas para reposição, para crescimento do rebanho e para venda. Todos os machos são vendidos imediatamente após a desmama, em geral com seis a nove meses de idade. Além dos machos desmamados, são comercializados bezerras desmamadas, novilhas, vacas e touros. Em geral, as bezerras desmamadas e as novilhas jovens (um a dois anos) são vendidas para reprodução, enquanto as novilhas de dois a três anos, as vacas e os touros descartados se destinam ao abate.
- **Cria e recria:** difere da anterior pelo fato de os machos serem retidos até 15 a 18 meses de idade, quando então são comercializados. Estes são comumente denominados garrotes.
- **Cria, recria e engorda:** considerada como atividade de ciclo completo, assemelha-se às anteriores, porém os machos são

vendidos como bois gordos para abate, com idade de 15 a 42 meses, dependendo do sistema de produção em uso.

- **Recria e engorda:** essa atividade tem início com o bezerro desmamado ou com o garrote e termina com o boi gordo. Embora essa atividade tenha predominância de machos, verifica-se também a utilização de fêmeas.

- **Engorda (terminação):** nas décadas passadas foi exercida pelos chamados “invernistas”. Estes se localizavam em regiões de boas pastagens e aproveitavam a grande oferta de boi magro (24 a 36 meses de idade) da época. Atualmente, encontra-se bastante restrita como atividade isolada, sendo desenvolvida por um número reduzido de pecuaristas que também fazem a terminação de fêmeas. Por outro lado, uma modalidade de engorda em expansão é o confinamento (como empreendimento em si), em que há a engorda do boi magro fruto de aquisição, de parceria ou mesmo de prestação de serviço (chamado “boitel”).

Sistemas de Produção

Levando em consideração o nível tecnológico, pode-se classificar os sistemas de produção de bovinos de corte (Tabela 1), como: a) sistema extensivo - regime alimentar exclusivo de pastagem; b) sistema semi-intensivo - pastagem mais suplementação em pasto; e c) sistema intensivo - pastagem mais suplementação e confinamento. Uma complementação recente a esta classificação (Cezar et al., 2005) é devida, pois a terminação em semi-confinamento (fornecimento de ração a pasto na terminação) tem se tornado cada vez mais comum nestes sistemas.

Sistemas Extensivos: são caracterizados pela utilização de pastagens nativas e cultivadas como únicas fontes de alimentos, suplementadas com suplemento mineral para cobrir deficiência de macro e microelementos. Esse grupo representa em torno de 80% dos sistemas produtivos de carne bovina brasileira, desenvolvendo atividades de cria a engorda, e apresenta uma alta variação de

desempenho. Os sistemas extensivos são praticados em todo o País com destaque para Cerrados de Roraima e do Amapá, nos campos inundáveis da ilha de Marajó, do Baixo Amazonas e do Maranhão, na Caatinga do Semi-Árido, no Pantanal e no sul da Campanha Gaúcha.

Sistemas Semi-Intensivos: também apresentam como base alimentar as pastagens (nativas e cultivadas) e os suplementos minerais, acrescidos de suplementos protéicos/energéticos. O objetivo é alcançar uma pecuária de ciclo mais curto, suplementando os animais em suas diversas fases de crescimento (aleitamento, recria e engorda), dependendo das metas de produção de cada sistema. Estima-se que 80% dos sistemas semi-intensivos praticados no País estão concentrados no Centro-Sul e em pequenos núcleos das regiões Norte e Nordeste.

Sistemas Intensivos: são caracterizados por uma alimentação mais intensiva durante a fase de recria e pela prática de confinamento e ou semi-confinamento na terminação de machos. Eventualmente, podem utilizar suplementação restrita do bezerro (creep feeding) para aumentar o peso à desmama e diminuir o tempo de recria. Do mesmo modo que o anterior, são desenvolvidas as atividades de cria, recria e engorda, de recria e engorda ou mesmo de engorda, como uma atividade isolada. Esses sistemas estão quase sempre associados com o uso mais intensivo de pastagens cultivadas. No confinamento, a preocupação é se obter o melhor custo da arroba produzida, balanceando-se dietas que levem a um maior ganho de peso com menor custo. Apesar de tradicionalmente utilizar grande quantidade de volumoso em dieta de confinamento, observa-se uma tendência de aumento no uso de concentrados. As regiões que utilizam estes sistemas, predominantemente, são: Centro-Oeste (MS, MT e GO), Sudeste (SP, MG, RJ e ES), Nordeste (BA), Sul (RS, PR e SC) e Norte (TO e PA).

Tabela 1 - Síntese dos sistemas de produção de bovinos de corte no Brasil

Sistema	Indicador (idade, meses)		
	1ª cria	Desmama	Abate
Extensivo	45	7-8	>40
Semi-intensivo	36	7-8	25 a 40
Intensivo	24	7-8	<24

SISTEMAS DE PRODUÇÃO MODAIS NAS DIFERENTES REGIÕES BRASILEIRAS

Região Centro-Oeste

Sistemas modais da região do Vale do Araguaia, Goiás (Pereira et al., 2005).

Trata-se de ciclo completo (cria, recria e engorda) de animais Nelore ou anelorados. Prevê taxa de natalidade de 70% e idade à primeira cria de 37 meses, suplementação mineral fornecida o ano inteiro, havendo suplementação com sal proteinado no período da seca. A idade média ao abate dos machos é de 40 meses. Quanto às pastagens, prevê 60% da área de pasto cultivado com *Brachiaria brizantha*, sendo a área restante ocupada com *Brachiaria humidicola* (20%) e *Andropogon* (20%). A lotação média das pastagens é de 0,8 UA/ha.

Sistemas modais da região da Bacia do Rio Formoso, Bonito, MS, (Melo Filho et al., 2006).

Trata-se de ciclo completo (cria, recria e engorda) de animais Nelore ou anelorados, com fêmeas descartadas entre a desmama e um ano de idade (exceto aquelas destinadas à recria para reposição das matrizes), e machos recriados e engordados em pasto, abatidos em torno dos 40 meses de idade. Prevê taxa de natalidade de 75% e idade à primeira cria de 40 meses, suplementação mineral fornecida

o ano inteiro, havendo suplementação com sal proteinado apenas para os machos em recria e engorda no período da seca. Quanto às pastagens, prevê 60% da área de pasto cultivado com *B. brizantha*, sendo a área restante ocupada com *Brachiaria decumbens* (30%) e *B. humidicola* (5%). As pastagens seriam utilizadas em pastejo contínuo, mas com recuperação, com capacidade de suporte média de 0,7 UA/ha.

Sistemas modais da região de Campo Grande, MS (Pereira e Costa, 2014).

Trata-se de ciclo completo (cria, recria e engorda) de animais Nelore ou anelorados, com fêmeas descartadas entre a desmama e um ano de idade (exceto aquelas destinadas à recria para reposição das matrizes), e machos recriados e engordados em pasto, abatidos em torno dos 44 meses de idade. Prevê eficiência reprodutiva baixa, com taxa de natalidade de 65% e idade à primeira cria de cerca de 42 meses, suplementação mineral fornecida o ano inteiro, havendo suplementação com sal proteinado apenas para os machos em recria e engorda no período da seca. Quanto às pastagens, prevê 70% da área de pasto cultivada com *B. brizantha*, sendo a área restante ocupada com *B. decumbens* (20%) e *B. humidicola* (10%). As pastagens seriam utilizadas em pastejo contínuo, sem adubação por cerca de 20 anos, mas com recuperação, com capacidade de suporte média de 0,76 UA/ha.

Sistemas modais da região do Pantanal, Corumbá, MS, (Santos et al., 2015).

O trabalho traz uma avaliação da evolução temporal nos custos de produção de um sistema típico de cria bovina no Pantanal sul-matogrossense. Apesar de omitir alguns detalhes sobre o sistema, descreve taxa de lotação de 0,33 UA/ha e idade à primeira cria aos 40 meses.

Região Norte

Sistemas modais da região de Paragominas, PA (Correa et al., 2006).

Trata-se de ciclo completo (cria, recria, engorda) de animais Nelore ou anelorados. O sistema modal de Paragominas explora pastagens cultivadas de *B. brizantha* cv. Marandu (braquiário). A lotação média anual das pastagens é de 0,75 unidades animal (UA)/ha/ano e o rebanho é suplementado com sal mineral o ano todo. As novilhas entram em reprodução em torno de 24 meses de idade e a taxa de natalidade é de 70% aos 33 meses. Os machos são abatidos em torno dos 36 meses de idade.

Sistemas modais do Estado de Rondônia (Melo Filho et al., 2005).

A fazenda típica de pecuária de corte em Rondônia é composta das fases de cria, recria e engorda. Em geral, há um excesso de lotação das pastagens e o manejo do rebanho apresenta várias deficiências. O sistema resulta em baixa eficiência reprodutiva, com as vacas apresentando uma taxa de natalidade de 60%. As novilhas entram em reprodução em torno de 24 meses de idade. O lento desenvolvimento ponderal na recria faz com que os machos, recriados e terminados exclusivamente em pasto, sejam abatidos entre 36 e 38 meses de idade.

Região Nordeste

Não há estudos detalhados que descrevam os sistemas modais de produção de bovinos de corte na região Nordeste. Uma primeira visão dos sistemas de produção do Nordeste pode ser obtida do estudo “Avaliação do FNE Rural - Série Avaliação de Políticas e Programas de Banco do Nordeste do Brasil Volume 12” (Gonçalves et al., 2012), o qual traçou o perfil de estabelecimentos rurais envolvidos em financiamentos do Fundo Constitucional de Financiamento do Nordeste (FNE).

Considerou-se relevante utilizar este estudo já que se trata de demanda referente a estabelecimento de política de financiamento agrícola. Segundo o estudo, entre 1998 e 2008, 65% das contratações estiveram fora do Semi-árido e os estados com maior número de contratações foram: Maranhão (35,2%), Bahia (26,9%) e Norte de Minas Gerais (11,9%), o que está provavelmente relacionado à maior presença de áreas de cerrado nestes estados. Quanto ao nível de intensificação, 85% tinham pecuária extensiva, 12% semi-extensiva e o restante intensiva. O estudo relatou peso médio ao abate de 16,1@ para machos, 12,0@ para fêmeas, e peso vivo de 126 kg do bezerro desmamado (7 a 8 meses de idade). Destacou-se ainda diferenças na ordem de 15% no peso de abate entre estabelecimentos localizados no Semi-árido ou não, mostrando a relevância de se considerar a ecorregião. Considerando as condições do Semi-árido, alguns estudos (Guimarães Filho e Soares, 1999ab; Salviano et al., 2004) descreveram indicadores zootécnicos de sistemas pecuários (Tabela 2).

Tabela 2 - Comparação de indicadores entre sistemas tradicionais e melhorados no semiárido brasileiro

Indicadores	Sistema tradicional¹	Sistema melhorado²
Taxa de lotação, UA ³ /ha	0,03 a 0,06	0,42
Intervalo entre partos, dias	700	522
Taxa de nascimento, %	45,0	72,8
Mortalidade de bezerros, %	15 a 20	0 a 1
Peso ao desmame, kg	90 a 100	140 a 160
Peso vivo aos 36 meses, kg	240 a 270	420 a 450
Ganho de peso/cab/ano, kg	60 a 70	160 a 200
Ganho de peso/ha/ano, kg	6 a 8	80 a 120

1 - Sistemas modais descritos por outros estudos. 2 – Sistema melhorado proposto pelos estudos de Guimarães Filho e Soares (1999ab) e Salviano et al. (2004). 3 – UA = unidade animal (450 kg de peso vivo).

Com base no exposto acima e na ausência de estudos de sistemas típicos, aposta-se considerar que a região Nordeste teria duas situações distintas: i) uma pecuária realizada fora do Semi-

árido que seria semelhante à praticada na região Centro-Oeste, e ii) uma pecuária característica da região de Semi-árido, utilizando-se da vegetação de caatinga, com índices zootécnicos descritos na Tabela anterior. Nesta última situação estima-se idades ao abate e à primeira cria acima de 48 meses.

Região Sul

Sistemas modais do Estado do Rio Grande do Sul – Região da Campanha (Costa et al., 2005).

Trata-se de fazenda de cria, recria e engorda composta de campo natural. Em geral, a capacidade de suporte do campo natural é baixa e os manejos reprodutivo e sanitário do gado são deficientes. O fornecimento de sal mineralizado para todo rebanho e suplemento proteico para animais em recria, no inverno, são práticas usuais. O sistema apresenta taxa de natalidade de 55% e primeiro acasalamento das fêmeas a partir dos 36 meses, com o que a primeira cria ocorre aos 45 meses de idade. O lento desenvolvimento ponderal na recria faz com que os machos, recriados e terminados exclusivamente em pastagens, sejam abatidos, em média, aos 40 meses.

Sistemas modais do Estado do Rio Grande do Sul – Bioma Pampa (Malafaia et al., 2012).

Trata-se de fazenda de cria, recria e engorda composta de campo natural em sua maior parte, além de campo natural melhorado com avezém, aveia, trevo branco e cornichão. Em geral, a capacidade de suporte do campo natural é baixa e os manejos reprodutivo e sanitário do gado são deficientes. O fornecimento de sal mineralizado para todo rebanho e suplemento proteico para animais em recria, no inverno, são práticas usuais. O sistema apresenta taxa de natalidade de 67% e primeiro acasalamento das fêmeas a partir dos 24 meses, com o que a primeira cria ocorre entre 36 e 42 meses de idade. O lento desenvolvimento ponderal

na recria faz com que os machos, recriados e terminados exclusivamente em pastagens, sejam abatidos, em média, aos 36 meses.

Tabela 3 - Síntese dos sistemas de produção modais de bovinos de corte nas diferentes regiões brasileiras

Região	Indicador (idade, meses)		
	1ª cria	Desmama	Abate
Centro-Oeste - GO	37	7-8	40
Centro-Oeste - MS/Bonito	42	7-8	40
Centro-Oeste - MS/Campo Grande	42	8	44
Centro-Oeste - MS/Pantanal	40	8	-
Nordeste - Semi-árido	>48	7-8	>48
Nordeste - não Semi-árido	42	8	40
Norte - PA	33	8	36
Norte - RO	33	8	36-38
Sul - RS/Campanha	45	7	40
Sul - RS/Pampa	36	7	36

A SUSTENTABILIDADE COMO FATOR DE COMPETITIVIDADE PARA A CADEIA PRODUTIVA DA PECUÁRIA DE CORTE

É sabido que as nações enfrentam desafios cada vez maiores para produzir alimentos de forma compatível com a disponibilidade de seus recursos naturais. São grandes os apelos para que seja difundido, cada vez mais, o conceito de Agricultura Sustentável, que enfoca o manejo e conservação dos recursos naturais e a orientação de mudanças tecnológicas e institucionais que assegurem a satisfação das necessidades humanas para a presente e as futuras gerações. É uma agricultura que conserva o solo, a água e os recursos genéticos animais, vegetais e micro-organismos, não degrada o meio ambiente; é tecnicamente

apropriada, economicamente viável e socialmente aceitável (Balbino et al, 2012).

No caso específico da pecuária de corte brasileira, os impactos ambientais causados pela atividade têm sido frequentemente questionados pelos *stakeholders* nas discussões setoriais, especialmente aqueles que atuam no mercado exportador de carne bovina, principal demandante de carne bovina de alta de qualidade. Entende-se por qualidade os aspectos intrínsecos (maciez, sabor, coloração, marmoreio, etc.) e extrínsecos (sustentabilidade, rastreabilidade, certificações de origem, bem-estar animal, comércio justo, etc.) presentes no processo de produção e no produto final.

Estes impactos ambientais se apresentam de diversas formas: por meio da emissão de gases de efeito estufa, desmatamento, degradação do solo e das pastagens, poluição hídrica, empobrecimento da biodiversidade, entre outras. Como consequência, observa-se a redução da sustentabilidade da pecuária em indicadores como: baixa taxa de desfrute, baixa oferta de forragem, baixos índices zootécnicos, baixa produtividade de carne entre outros.

Aliado a isto, a estrutura de mercado de concorrência perfeita, onde um número significativo de pecuaristas, ofertando uma carne comoditizada, dificulta as ações que visam diferenciá-la por atributos de qualidade. A baixa integração entre os elos da cadeia produtiva também dificulta a coordenação de iniciativas de sustentabilidade. Deve-se ainda destacar o baixo uso de tecnologias poupa-terra, apesar do seu crescente processo de adoção observado nas últimas décadas.

Entretanto, existem tecnologias disponíveis e economicamente viáveis capazes de diminuir os impactos ambientais causados pela atividade pecuária, como os sistemas integrados de produção, melhoramento genético de animais, adubação de manutenção de pastagens, recuperação de pastagens, vedação de pastagens e suplementação, boas práticas de produção, produção de novilho precoce, entre outras.

Essas tecnologias podem trazer ganhos de eficiência para os sistemas produtivos pecuários, melhorando os indicadores zootécnicos e, conseqüentemente, a taxa de desfrute e lucratividade do pecuarista. Além disso, permitem o desenvolvimento de novos negócios com foco em diferenciação do produto por qualidade ao longo da cadeia produtiva, gerando, com isso, uma maior competitividade do setor.

Dentre as tecnologias mencionadas acima, a integração lavoura-pecuária-floresta (ILPF) é, potencialmente, uma das principais estratégias de produção agropecuária sustentável, em particular nos trópicos. No Brasil, verifica-se um proeminente avanço das tecnologias que compõem os diferentes sistemas, modalidades e arranjos de ILPF, com inúmeros benefícios tecnológicos, econômicos e sociais, ecológicos e ambientais.

Esse destaque tem colocado a ILPF em evidência, com grande interesse pela sua adoção por parte dos produtores rurais e, por outro lado, pelo desenvolvimento de políticas públicas e programas de fomento governamentais.

Segundo o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, a "ILPF promove a recuperação de áreas de pastagens degradadas agregando, na mesma propriedade, diferentes sistemas produtivos, como os de grãos, fibras, carne, leite e agroenergia. Busca melhorar a fertilidade do solo com a aplicação de técnicas e sistemas de plantio adequados para a otimização e a intensificação de seu uso. Dessa forma, permite a diversificação das atividades econômicas na propriedade e minimiza os riscos de frustração de renda por eventos climáticos ou por condições de mercado".

Apesar de serem conhecidos há bastante tempo, os sistemas de produção que integram atividades agrícolas, pecuárias e florestais são ainda pouco utilizados no Brasil. Estima-se que as diferentes modalidades de Integração lavoura-pecuária-floresta, em diferentes níveis de intensidade, correspondam a cerca de 1,6 milhão de hectares em todos os biomas brasileiros, enquanto que a área total ocupada em atividade agropecuária em todo o país

ultrapassa os 60 milhões de hectares (BALBINO et al., 2011).

Outra iniciativa sustentável refere-se ao conceito Carne Carbono Neutro (CCN). A principal finalidade da marca-conceito CCN, desenvolvida pela Embrapa, é atestar a produção de bovinos de corte em sistemas com a introdução obrigatória de árvores como diferencial. Nessas condições, a presença do componente arbóreo em sistemas de integração do tipo silvipastoril (pecuária-floresta, IPF) ou agrossilvipastoril (lavoura-pecuária-floresta, ILPF) neutraliza o metano entérico (exalado pelos animais), um dos principais gases responsáveis pelo efeito estufa que provoca o aquecimento global. O conceito pode impulsionar a exportação para mercado mais exigentes. A perspectiva é melhorar a visibilidade da carne brasileira e promover maior adoção dos sistemas ILPF e IPF no Brasil.

Alguns gargalos se apresentam para que os referidos sistemas ganhem escalas em todas as regiões do Brasil, são eles: complexidade do sistema e desconhecimento dos seus reais benefícios; a baixa capacitação do produtor rural e de técnicos da assistência técnica e extensão rural (ATER) e outros atores, como os agentes financeiros; falta de mão-de-obra especializada; falta de infraestrutura adequada; elevado investimento inicial, entre outros.

DESAFIOS FUTUROS PARA OS NEGÓCIOS SUSTENTÁVEIS NA CADEIA PRODUTIVA DA CARNE BOVINA

No que se refere à surgimento de novos negócios sustentáveis na cadeia produtiva da carne bovina, é de extrema importância estratégica identificar o comportamento e preferência de quem está adquirindo o produto ao longo da cadeia de valor, sejam eles consumidores intermediários, institucionais ou consumidores finais (população em geral).

Existe um consenso na literatura que, historicamente, as relações entre os agentes da cadeia bovina sempre foram conflituosas, o que define uma relação entre seus membros, exclusivamente, via mercado. Entretanto, as transações em que a identidade dos atores tem pouca importância tornaram-se

inadequadas, em função das mudanças nos atributos valorizados pelos consumidores, em que cada vez mais são crescentes as preocupações com questões sanitárias, ambientais, com o bem-estar animal, com a exploração de mão-de-obra infantil, com a responsabilidade corporativa, com a obesidade da população, com o comércio justo, entre outros aspectos.

Em sintonia com esta realidade, percebe-se crescente desenvolvimento de projetos empreendedores, arquitetados coletivamente ao longo da cadeia produtiva, que visam agregação de valor na carne bovina. Esses projetos fundamentam-se no interesse cada vez maior dos consumidores pela qualidade e segurança dos alimentos, fruto da internacionalização de sua produção e consumo.

Nesse sentido, atributos como Denominação de Origem, Rastreabilidade, Transparência nos Processos Produtivos, Boas Práticas Agropecuárias e Esquemas de Qualidade Assegurada, Produção Orgânica, Boi Verde, Carne Natural, Uso de Selos Verdes e Certificações Socioambientais entre organizações com relações horizontal e vertical no processo de produção, vêm ganhando um espaço cada vez maior nos últimos anos, sendo variáveis fundamentais nos projetos empreendedores de agregação de valor ao longo da cadeia da carne bovina, proporcionando excelentes oportunidades mercadológicas.

Para tanto, a cadeia da carne bovina brasileira precisa se comunicar mais eficientemente com seus clientes. É necessário lembrá-los que a carne pode fazer parte de uma dieta saudável. É preciso trabalhar em inovação e na criação de novos produtos. Algumas razões sustentam o argumento pelo qual devemos apostar em carne de qualidade: uma delas é a concorrência.

A carne bovina possui um valor elevado quando comparado às demais proteínas animais, podendo aumentar proporcionalmente esse valor a médio e longo prazo. Sendo assim, para ter competitividade no mercado há necessidade de se investir em uma base de sustentação que garanta produtos diferenciados em relação a qualidade, ao sabor e a experiência.

Vários estudos apontam que a disponibilidade de renda leva o consumidor a escolher carne bovina. No mercado interno, por exemplo, a ascensão econômica da classe C, que representa 54% da população brasileira, com renda mensal familiar média de R\$ 2.900, fez com que o perfil desse consumidor mudasse rapidamente, em especial na área de alimentação. Uma das mais significativas transformações está no aumento de 4,2% das compras de carne bovina de primeira (NEVES, 2012).

Em 2005, havia 26 milhões de brasileiros nas classes A e B. Em 2010, eram mais de 42 milhões de pessoas. As classes A e B consomem mais, e principalmente são mais exigentes quanto à qualidade, sabor, experiência de consumo e se preocupam com as questões ambientais, especialmente com o custo do capital natural envolvido no processo de produção pecuário (CAVALCANTI, 2012).

No mercado externo, especialmente nos mercados emergentes como Ásia, Oriente Médio e Norte da África, o incremento no consumo de carne bovina deve ser de 5% ao ano, o que significa 8,2 milhões de toneladas. Se em 1965 os países em desenvolvimento representaram 15,4% das importações mundiais de carnes, em 2015 essa fatia chegou a 55,4%. Cabe salientar que o aumento de renda dos países emergentes não aumenta apenas a classe média. Aumenta também as classes A e B. No Brasil, espera-se que o mercado *premium* cresça 25% nos próximos anos.

Nos mercados mundiais mais exigentes, onde o nível de renda e cultura é mais elevado, existe o apelo de consumo para carne natural/orgânica/sustentável. O sistema produtivo pecuário brasileiro, de forma geral, já está em sintonia com essa, visto que a maior parte da nossa criação se dá a pasto, conforme descrito anteriormente.

Porém, as vendas do produto brasileiro poderiam expandir-se ainda mais se fossem considerados os atributos acima mencionados. Embora se acredite que essa alternativa jamais vá absorver uma porcentagem expressiva das exportações brasileiras, ela pode ser atraente como um nicho de mercado a ser explorado.

Postos estes argumentos, buscou-se sintetizar as oportunidades de novos negócios sustentáveis para a cadeia da carne bovina brasileira. São elas:

- 1) Explorar a diferenciação por qualidade na carne bovina, especialmente com foco em sustentabilidade ambiental ao longo de toda a cadeia produtiva;
- 2) Produção de pecuária orgânica;
- 3) Venda de produtos e serviços ambientais por produtores;
- 4) A multifuncionalidade da propriedade rural, como a exploração do Ecoturismo;
- 5) Desenvolver marcas geográficas, valorizando a diversidade de Biomas e suas influências no sabor da carne, enaltecendo os aspectos ambientais do processo produtivo;
- 6) Desenvolver produtos *Premium* que ofereçam um conjunto de atributos (conveniência, características organolépticas, embalagem, etc.) que vão além da segurança do alimento
- 7) Desenvolver negócios que explorem a capacidade de gerar produtos diversos (cortes e produtos com maior valor agregado), compondo um *mix* variado, sem incorrer em tempo ou custos adicionais para o consumidor.

Tais oportunidades alavancarão outros setores adjacentes ao da pecuária bovina, tais como empresas privadas de consultoria, negócios de comercialização *online* de serviços e produtos para a pecuária, leiloeiras, bolsa de mercadorias e futuro, empresas de propaganda e *marketing*, entre outros.

Por fim, quanto aos obstáculos a serem vencidos pela cadeia da carne bovina brasileira para os próximos anos, destacam-se: a superação das barreiras sanitárias; o desenvolvimento de um padrão de qualidade e seu reconhecimento pelo mercado importador; a constituição de uma cadeia melhor coordenada; a superação de limitantes de exportação tais como quotas, tarifas e concorrência subsidiada; a colocação de produtos de maior valor; redução do impacto ambiental, especialmente, mediante a utilização do sistema de ILPF; e, melhoria da imagem do pecuarista perante a sociedade brasileira, particularmente, no que diz respeito à sua associação

negativa com o desmatamento e o descumprimento de leis ambientais.

Apesar dos enormes e complexos desafios impostos a cadeia produtiva da pecuária de corte brasileira, a expressiva evolução do setor nas últimas duas décadas indica que é possível termos uma pecuária de corte com padrões de sustentabilidade. Para tanto, é necessário que, cada vez mais, os diversos *stakeholders* que atuam na cadeia possam pensar e desenvolver coletivamente as estratégias do setor.

REFERÊNCIAS

- Balbino et al (2012). Agricultura Sustentável por meio da Integração, lavoura, pecuária e floresta (iLPF). **Informações Agronômicas**, n. 138. International Plant Nutrition Institute.
- CEZAR, Ivo Martins, et al. (2005) **Sistemas de produção de gado de corte no Brasil: uma descrição com ênfase no regime alimentar e no abate**. Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1517-3747 ; 151). Campo Grande, MS : Embrapa Gado de Corte.
- COSTA, F.P.; MELO FILHO, G.A.; CORREA, E.S.; CEZAR I.M.; PEREIRA, M.A.; COLLARES, R.S.; SALOMONI, E. Sistema e Custo de Produção de Gado de Corte no Estado do Rio Grande do Sul – Região da Campanha. Comunicado Técnico 95. Campo Grande: CNPGC, 2005. 7p.
- CORREA, E.S.; COSTA, F.P.; MELO FILHO, G.A.; CEZAR I.M.; PEREIRA, M.A.; COSTA, N.A.; SILVEIRA FILHO, A.; TEIXEIRA NETO, J. F. Custo de produção de gado de corte no Estado do Pará. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 43, 2006, João Pessoa. Anais... João Pessoa, 2006.
- GONÇALVES, M.F.; SOUZA, J.M.P.; BUSO, J.A.; BALSADI, O.V. Avaliação do FNE Rural. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2012. 382p.
- GUIMARÃES FILHO, C.; SOARES, J.G.G. Sistema CBL para a produção de bovinos no Semi-árido. Petrolina: Embrapa Semi-árido, 1999a. 3p.
- GUIMARÃES FILHO, C.; SOARES, J.G.G. Avaliação de um modelo físico de produção de bovinos no Semi-árido integrando caatinga, capim-buffel e leucena. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 34, n.9, p.1721-1727, 1999b.

MALAFAIA, G.C.; SANT'ANNA, J.; LUCAS, M.A.; LAMPERT, V.N.; COSTA, F.P. Sistema e Custo de Produção de Gado de Corte no Estado do Rio Grande do Sul – Bioma Pampa. 2012. Comunicado Técnico 128. Campo Grande: CNPGC, 2012. 7p.

MAPA. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Conceito de Integração, lavoura, pecuária e floresta. Acessado em 25/05/2015. Disponível em <http://www.agricultura.gov.br/desenvolvimento-sustentavel/integracao-lavoura-pecuaria-silvicultura>

MELO FILHO, G. A.; COSTA, F.P.; CORREA, E.S.; PEREIRA, M.A.; CEZAR, I.M. NETTO, F.G.S. Sistema e Custo de Produção de Gado de Corte no Estado de Rondônia. Comunicado Técnico 92. Campo Grande: CNPGC, 2005. 7p.

MELO FILHO, G. A.; CORREA, E.S.; COSTA, F.P.; RICHETTI, A.; HERNANI, L.C.; GARCEZ, A.J.S.; MATOS, L.L.; MIRANDA, D. Sistemas de produção praticados e sistemas melhorados propostos - Bacia do Rio Formoso, Bonito, MS. Documentos 164. Campo Grande: CNPGC, 2006. 64p.

PEREIRA, M.A.; COSTA, F.P. Sistemas modais de produção de carne bovina na região de Campo Grande: uma análise temporal sob a ótica de especialista da cadeia produtiva. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 52, 2014. GOIÂNIA. Anais... Goiânia, 2014.

PEREIRA, M.A.; COSTA, F.; CORREA, E.S.; CEZAR, I.M.; MELO FILHO, G.A.; WANDER, A.E.; NASCIMENTO, D.S. Sistema e custo de produção de gado de corte no Estado de Goiás. Comunicado Técnico 94. Campo Grande: CNPGC, 2005. 7p.

SALVIANO, J.M.C.; OLIVEIRA, M.C.; SOARES, J.G.G.; ALBUQUERQUE, S.G. Desempenho de bovinos em pastagem de caatinga sob diferentes taxas de lotação. Petrolina: Embrapa Semi-árido, 2004. 20p.

SANTOS, M.C.; DE ZEN, S.; ABREU, U.G.P.; CARVALHO T.B.; YANAGUIZAWA, W.H. A pecuária de corte no Pantanal – uma análise temporal do sistema modal de produção em Corumbá/MS. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ECONOMIA, ADMINISTRAÇÃO E SOCIOLOGIA RURAL, 53, 2015. JOÃO PESSOA. Anais... JOÃO PESSOA, 2015.

BALANÇO DE CARBONO E EMISSÃO DE GASES DE EFEITO ESTUFA DA PECUÁRIA BRASILEIRA

Bruno J. R. Alves¹; Segundo Urquiaga¹; Lucero Sarabia²; Rafael C. Monteiro²; Claudia P. Jantalia¹; Robert M. Boddey¹

¹Embrapa Agrobiologia, BR 465 km 7, Ecologia, 23891-000, Seropédica, RJ.

²PPGA-Ciência do Solo, Depto. Solos, IA, UFRRJ, BR 465 km 7, 23897-000, Seropédica, RJ

INTRODUÇÃO

O dióxido de carbono (CO₂), o metano (CH₄) e o óxido nitroso (N₂O) são gases que possuem a capacidade de absorver e emitir radiação infravermelha, e com isso reduzem a dissipação para o espaço do calor produzido pelo sol, mantendo a atmosfera do planeta aquecida (Lashof e Ahuja, 1990). Por isso, esses três gases, e alguns outros, como o vapor d'água, ozônio e os gases de refrigeração (CFCs), que não serão mencionados neste trabalho, são chamados de gases de efeito-estufa (GEEs).

Desde os anos 1980, o aumento dos GEEs na atmosfera vem sendo discutido, tendo em conta os possíveis impactos climáticos e consequências para a vida no planeta. Neste sentido, o quinto relatório sobre o clima, produzido pelas Nações Unidas, foi incisivo sobre as evidências inequívocas de que a modificação dos padrões de emissão de GEEs está produzindo um aquecimento do sistema climático, mudanças sem precedentes ao longo de décadas a milênios (IPCC, 2014). Acrescenta-se que a influência humana no sistema climático é clara e as recentes emissões antropogênicas de GEEs são as mais altas da história. De acordo com a Agência Americana de Proteção Ambiental¹, as emissões de fontes fósseis (queima de petróleo, carvão, gás, xisto etc.) relacionadas à geração de calor, transportes etc. representavam algo próximo de 70% das emissões globais de GEE em 2010. A atividade agrícola e o desmatamento representavam 24%. Outras atividades antrópicas, como a produção de solventes, manejo de

¹Informações mais detalhadas disponíveis em <https://www.epa.gov/ghgemissions/global-greenhouse-gas-emissions-data>

resíduos orgânicos, entre outras, contribuíram para os 6 % restantes.

Ao contrário do padrão global, a última atualização do inventário de GEE do Brasil mostra que ao longo dos anos, as emissões do setor “Energia”, que computa grande parte das emissões de fontes fósseis, foram de apenas 11 % do total emitido pelo País em 2005, aumentando para 37 % do total, em 2014 (Brasil, 2016a). As maiores contribuições para as emissões de GEEs são observadas para o conjunto “Mudança de Uso, Uso da Terra e Florestas” e “Agricultura”, atingindo 51 % das emissões totais do País em 2014.

As emissões líquidas de GEE no Brasil em 2005 foram de 2,74 Pg (bilhões de toneladas) em equivalentes de CO₂ (CO₂eq)², as quais, devido ao controle do desmatamento, se reduziram para 1,27 Pg CO₂eq em 2010, mantendo-se em níveis próximos até 2014 (1,28 Pg CO₂eq). Apesar da grande mitigação produzida com a redução do desmatamento, os demais setores mostram emissões crescentes desde 1990.

Frente ao desafio global de evitar mudanças climáticas mais acentuadas, as Nações Unidas têm se balizado nos resultados de pesquisas internacionais para avaliar os esforços que devem ser envidados para conter o processo. No recente Acordo de Paris³, de 2016, foi admitido ser essencial que o aumento da temperatura média do planeta não ultrapasse 2°C, ou idealmente fique abaixo de 1,5 °C, pois do contrário, alterações climáticas imprevisíveis tornarão muito difícil a vida no planeta. Visando reduzir as emissões de GEE, estabeleceram-se metas de mitigação determinadas por cada Nação (NDC), as quais deverão ser cumpridas até 2025, e possivelmente prorrogadas até 2030. A melhoria do setor pecuário está entre as metas assumidas pelo

²Como existem diferenças quanto ao poder de aquecimento da atmosfera entre o CO₂ e outros gases (N₂O, CH₄ etc), estabeleceu-se uma métrica de equivalência entre eles para determinado intervalo de tempo, sendo o CO₂ a referência unitária. O N₂O, por exemplo, para um intervalo de tempo de 100 anos, tem um poder de aquecimento 298 vezes o do CO₂, enquanto que o do CH₄ é de 28 vezes (IPCC, 2013). Isso é usado para somar as emissões de todos os gases juntos, cuja unidade final é o equivalente de CO₂.

³Disponível em https://unfccc.int/files/essential_background/convention/application/pdf/english_paris_agreement.pdf

Brasil⁴, incluindo-se a recuperação de pastagens degradadas, e a expansão dos sistemas integrados lavoura-pecuária-floresta (diga-se também, os sistemas lavoura-pecuária, agroflorestal e silvipastoril). Esses esforços para tornar a agricultura mais sustentável ambientalmente estão em programas do Governo, como o Programa ABC (Agricultura de baixa emissão de carbono).

Dessa forma, deve-se caracterizar e monitorar as emissões da agricultura brasileira, onde se inclui a pecuária, visando conhecer os níveis de emissão de GEE e futuros progressos com estratégias de mitigação. Neste sentido, o presente trabalho traz um resultado integrado das emissões de GEE para a pecuária bovina brasileira, onde se incluem os efeitos da conversão e utilização do solo para pastagens sobre as emissões de CO₂, e também as emissões de CH₄ e N₂O em consequência da presença dos animais.

FONTES DE GEE NA PECUÁRIA

Os GEE que são contabilizados para o setor pecuário são o CO₂, CH₄ e N₂O, sendo o primeiro originado da mudança de estoques de C do solo e da biomassa, assim como da energia fóssil utilizada para as operações agrícolas e daquela embutida na industrialização de equipamentos e insumos. O CH₄ é produzido pelos ruminantes (bovinos, principalmente) e emitido das excretas, manejadas ou não. O N₂O tem origem no aumento das concentrações de N mineral do solo provocadas pela adição de fertilizantes nitrogenados e adubos, pela deposição de excretas frescas e pela mineralização de N decorrente da decomposição de resíduos vegetais e manejo do solo (IPCC, 2006). Entre os três gases, o CO₂ é o único que está sujeito a emissão e remoção da atmosfera, no último caso, o processo é conhecido como “sequestro de carbono”. Para o N₂O e o CH₄ admite-se somente a

⁴Ministério do Meio-Ambiente, Contribuições Nacionalmente Determinadas (iNDC), <http://www.mma.gov.br/informma/item/10570-indc-contribui%C3%A7%C3%A3o-nacionalmente-determinada>

emissão, pois ainda não existe uma base científica para sustentar processos de remoção da atmosfera pela agricultura.

Emissões e remoções de CO₂: o balanço de carbono

Antes da descoberta do Brasil pelos portugueses em 1500, todo o território era coberto por vegetação clímax, que guardava uma biomassa mais ou menos constante ao longo do tempo. A matéria seca da biomassa tem aproximadamente 50 % de C em sua composição, o que quer dizer que essa vegetação nativa era um armazém permanente de C- orgânico, e assim permanece, no caso dos remanescentes. Segundo os dados oficiais, os estoques de C na biomassa de áreas nativas, remanescentes, variam ao redor de 5 a 200 Mg C/ha, os maiores estoques observados em florestas ombrófilas da Amazônia, Cerrado e Mata Atlântica, e os menores, na vegetação de estepes e campos (Brasil, 2016b).

Quando existe uma mudança de uso do solo para estabelecimento de pastagens, por exemplo, a biomassa da vegetação nativa é removida, dando lugar a uma biomassa de gramínea forrageira que pode ser bem menor (Tabela 1). Os dados da Tabela 1 indicam que as pastagens de braquiária, largamente utilizadas no Brasil, armazenam menos de 4 Mg C/ha (assumindo 50 % de C na matéria seca) na parte aérea.

Levando-se em conta o sistema radicular, a biomassa total das pastagens pode ser considerada algo próximo do dobro do que se quantifica na parte aérea. Oliveira et al. (2004) quantificaram em 11,4 a 39,7 Mg/ha a matéria seca (MS) de raízes existentes em pastagens de *U. brizantha* (Marandú) até 40 cm de profundidade de um Latossolo de Piracanjuba, GO, e em 4,6 a 17,7 Mg/ha (0-40 cm) em pastagens da mesma espécie em Latossolo de Campo Grande, MS. No entanto, não informaram a matéria seca da parte aérea das plantas. Números bem menores foram relatados por Costa et al. (2006) em estudo realizado no Acre, em que a biomassa de raízes de *U. brizantha* para os primeiros 25 cm do solo variou entre 0,77 e 1,92 Mg MS/ha, as menores quantidades nas pastagens mais velhas (8 anos). Neste caso, a biomassa de raízes

foi um pouco menor que a biomassa aérea reportada em seu estudo, listado na Tabela 1. Por outro lado, a biomassa aérea relatada na Tabela 1 para o estudo de Santos et al. (2007) foi superior a biomassa de raízes que variou entre 2,9 e 9,1 Mg MS/ha na avaliação até 1 m de profundidade do solo sob *U. brizantha*, em Goiânia, GO. Embora exista grande variabilidade de resultados, pode-se considerar que a biomassa radicular das pastagens se aproxima da biomassa da parte aérea. Considerando esses dados, pode-se dizer que o estoque de C na oferta média anual de biomassa total das pastagens deve variar entre 3 e 10 Mg/ha, os menores números para condições mais degradadas. Esses números dão apenas uma referência de ordem de grandeza, pois podem variar com a fertilidade do solo, espécie forrageira, clima, pressão de pastejo, estação do ano entre outros fatores.

Tabela 1 - Ofertas de pastagens de braquiária (*Urochloa* spp.) na base matéria seca (kg/ha) para diferentes localidades no Brasil, reportadas em diferentes estudos

Local	Pastagem	Biomassa aérea existente (kg/ha)	Referência
Ouro Preto d'Oeste, RO	<i>Urochloa brizantha</i>	5195	Zanchi et al. (2009)
Viçosa, MG	<i>Urochloa decumbens</i>	4496	Fagundes et al. (2006)
Goiânia, GO	<i>Urochloa brizantha</i>	1280 a 4574	Santos et al. (2007)
Itabela, BA	<i>Urochloa humidicola</i>	~2500	Rezende et al. (1999)
Porto Acre, AC	<i>Urochloa brizantha</i>	1164 a 2532	Costa et al. (2006)
Rio Brilhante, MS	<i>Urochloa brizantha</i>	5000 a 6200	Lima et al. (2011)

Mesmo considerando as raízes das pastagens, a substituição da vegetação nativa leva a uma grande redução nos estoques de C da biomassa, o que significa uma transferência de C para a atmosfera que varia de algumas unidades, nos casos de ocupação de campos nativos e estepes, até dezenas a centenas de toneladas de CO₂ por hectare, no caso da ocupação de áreas de florestas mais densas e exuberantes, como as que ocorrem na maioria dos biomas brasileiros.

Estoques de C do solo

A mudança de uso do solo de vegetação nativa para pastagem pode trazer efeitos nos estoques de C do solo. Numa condição de vegetação nativa intocada, em seu estado original, o solo recebe uma quantidade mais ou menos constante de resíduos orgânicos da vegetação (material aéreo e raízes senescentes depositadas no solo) que passa por decomposição com taxa aproximadamente constante. Assim, pode-se dizer que, nessa condição, existe um equilíbrio dinâmico entre a deposição e decomposição de material orgânico, que se traduz em um estoque estável de matéria orgânica no solo.

Para estimar os estoques de C existentes no passado nos solos do Brasil, Bernoux et al. (2002) utilizaram resultados de análises de solo de áreas de vegetação nativa dos anos 1970 e 1980, além de mapas pedológicos e de vegetação. Produziu um mapa que é considerado o retrato dos estoques de C armazenados nos solos do Brasil para o período pré-descobrimento, para a profundidade de 0-30 cm. Segundo o mapa (Fig. 1), os estoques variavam de 15 a mais de 400 toneladas de C por hectare, dependendo do tipo de solo e da vegetação existente.

Figura 1 - Estimativas de estoques de C do solo sob vegetação nativa original do Brasil para a camada de 0-30 cm do solo (modificado de Bernoux et al. 2002).

Quando ocorre a mudança de uso do solo da vegetação nativa para pastagem, por exemplo, o equilíbrio entre deposição e decomposição deixa de existir por um tempo. A alteração da produção primária na mudança de uma cobertura vegetal para outra modifica a deposição de resíduos, e o manejo do solo altera as taxas de decomposição. A tendência é que um novo equilíbrio entre deposição e decomposição seja alcançado em algumas dezenas de anos, dando origem a um novo estoque de C do solo relativamente estável, cuja magnitude depende dessa nova condição de uso do solo (Johnston et al., 2009). De acordo com o IPCC (2006), sempre que ocorre uma mudança de uso do solo, os estoques de C se estabilizam após 20 anos, desde que mantido o mesmo uso nesse período. Tudo isso também vale para outras mudanças de uso, como, por exemplo, a mudança de uso do solo de pastagem para lavouras, ou mesmo o retorno da floresta em

estrutura secundária para áreas que eram usadas para pastagens e que foram abandonadas, entre outros.

Existem evidências de que espécies que tem alta taxa de deposição de material morto, ou resíduos, e que são manejadas sem perturbação do solo, ou seja, sem estimular a decomposição, resultam em altos estoques de C do solo. Da mesma forma, temperaturas mais frias e solos mais argilosos implicam em menores taxas de decomposição, ou seja, favorecem a maior estoque de C do solo (Parton et al., 1987). Uma referência utilizada pelo IPCC (2006) para avaliar o efeito da mudança de uso do solo sobre os estoques de C do solo é a razão entre o estoque médio encontrado sob determinada forma de uso (lavoura anual, pastagem, floresta comercial, cana-de-açúcar etc.), após 20 anos sob mesmo uso, em razão do estoque de C do solo sob a vegetação nativa. Essas avaliações são feitas para os primeiros 30 cm do solo, embora haja evidências no Brasil para efeitos muito significativos até pelo menos 1 m de profundidade (Boddey et al., 2010).

Dados medidos no País mostram que a mudança de uso do solo para pastagens tem pouco efeito sobre os estoques de C do solo, em relação ao que existia sob as vegetações nativas dos diferentes biomas. Estudos realizados em áreas de Cerrado e Mata Atlântica mostram que os estoques de C do solo se mantêm semelhantes (Tarré et al., 2001; Mello et al., 2014; Sant'Anna et al., 2017), ou até mesmo aumentam quando os pastos são produtivos (Braz et al, 2013). Por outro lado, os estoques de C do solo tendem a ser maiores sob pastagens em comparação a outros usos, como lavouras anuais e permanentes (Mello et al., 2014). Assim, assume-se que se pastagens são implantadas em substituição a vegetação nativa, os estoques de C do solo não irão se alterar significativamente. Por outro lado, quando uma pastagem ocupa uma área utilizada com lavouras, espera-se acumulação de C no solo, ou seja, um "sequestro de C no solo".

Análise integrada

Na história de ocupação do solo no Brasil, é muito comum a eliminação de florestas ou campos nativos para o plantio de pastagens, seja esse processo realizado para avançar a fronteira agrícola ou simplesmente para garantir a posse da terra (Anacleto e Miziara, 2006; Santos e Sano, 2015). Numa visão mais atual, verifica-se que grandes áreas dos diferentes biomas já estava convertida para pastagens no início dos anos 1990 (Fig. 2), mas apenas na Amazônia, Cerrados e Pantanal a tendência de conversão de áreas para pastagens mostrou tendência crescente.

Figura 2 - Variação de áreas utilizadas com pastagens entre 1994 e 2010 para cada um dos biomas do território brasileiro (Dados extraídos de Brasil, 2016b).

De acordo com a Figura 2, em 1994 o Brasil tinha 148 Mha de pastagens, área que ampliou para 174 Mha em 2002, mas que se reduziu em 2010 para 172 Mha. Nesse processo, áreas novas de pastagens foram formadas substituindo áreas de florestas,

campos nativos, lavouras e outros usos. Nesse processo, áreas de pastagens também foram revertidas para lavouras, e também abandonadas com retorno da vegetação local. Logicamente, áreas de pastagens permaneceram como pastagens. A Figura 3 ilustra a condição para o ano de 2010, que mostra a porcentagem da área de pastagens que se manteve como pastagens e aquelas que surgiram em substituição de florestas, campos e lavouras.

Com base na Figura 3, verifica-se que na história mais recente de uso do solo, as pastagens dos biomas Amazônia e Pantanal foram as que mais avançaram sobre áreas nativas. Em consequência, emissões da ordem de 6 Mg CO₂/ha/ano foram estimadas para as pastagens da Amazônia, e de quase 2 Mg CO₂/ha/ano para as pastagens do Pantanal, considerando o intervalo de tempo de 2002 a 2010 (Fig. 4). As altas emissões decorrem da substituição da biomassa da vegetação nativa, especialmente das florestas, pela biomassa da pastagem com estoques de C dezenas de vezes menor.

Figura 3 - Proporção das áreas sob pastagens nos diferentes biomas em 2010 que eram pastagens nas avaliações anteriores ou que surgiram em substituição de florestas, campos e lavouras (Dados extraídos de Brasil, 2016b).

Para o bioma Cerrados, as emissões de CO₂ pela mudança de uso e uso do solo não foram tão elevadas, pois os percentuais de ocupação de pastagens sobre áreas nativas foram menores. Além disso, parte da mudança de uso do solo se deu sobre lavouras, contribuindo com remoções de C no solo. Nesse processo, deve-se levar em conta, também, as áreas modificadas dos biomas.

Figura 4 - Emissões anuais de CO₂, por hectare, estimadas para a área total de pastagens dos diferentes biomas brasileiros, considerando-se as áreas de pastagens que permaneceram como pastagens, ou seja, sem efeito sobre emissões de CO₂, e aquelas que substituíram florestas, campos nativos, lavouras etc. e que resultaram em emissões/remoções de CO₂ por alteração de biomassa e estoques de C do solo (Dados extraídos de Brasil, 2016b).

Outro exemplo, foram as emissões das pastagens no bioma Mata Atlântica, cujos percentuais desmatados para dar origem a pastagens foram relativamente pequenos, embora também deva-se considerar que foi um bioma intensamente explorado no passado (Boddey et al., 2003), com um remanescente de vegetação nativa inferior a 10 %.

Dados sobre o País, estimados para 2014 (Brasil, 2016a), indicam que as emissões líquidas de CO₂ deverão ficar abaixo das observadas para 2010, embora o estudo não permita avaliar como foi a dinâmica das áreas de pastagens, principalmente em relação as áreas de remanescentes florestais e campos nativos (Fig. 5).

Figura 5 - Emissões de CO₂ líquidas para o Brasil originadas do setor do inventário nacional de GEE de Mudança de uso, Uso da terra e Florestas (Dados extraídos de Brasil, 2016a).

Essa situação do bioma Mata Atlântica sugere que, mesmo existindo evidências de que as emissões de CO₂ pela mudança de uso e uso do solo reduzam com o passar do tempo, taxas próximas de 1 Mg CO₂/ha/ano, ou <300 kg C/ha/ano deverão representar as emissões médias de solos de pastagens para o Brasil para os próximos anos.

Deve-se considerar que o balanço de C apresentado não considera a condição da pastagem. Existem evidências de que pastagens degradadas tem estoques de C do solo diminuídos em relação a pastagens produtivas (Braz et al. 2013), e isso pode mudar as relações de estoques de C do solo mencionadas anteriormente, algo que ainda vai requerer muitos estudos para ser considerado nos balanços de GEE.

Emissões de N_2O e CH_4

A digestão de ruminantes é responsável pelas emissões de CH_4 na pecuária nacional, especialmente pelo grande rebanho de bovinos, que em 2016 era de 218 milhões de cabeças, segundo o IBGE⁵.

Durante o processo de digestão, a forragem e suplementos alimentares passam por fermentação no rúmen, dando origem ao CH_4 , um gás incolor e inodoro que é emitido pelo animal principalmente por eructação (arroto).

O processo de produção de CH_4 no rúmen tem a participação de bactérias, protozoários e fungos, os quais hidrolizam proteínas, amido e polímeros da parede celular da planta, como celulose e hemicelulose, em aminoácidos e açúcares. Estas moléculas simples são então fermentadas para ácidos graxos de baixo peso molecular, hidrogênio e CO_2 . Acetato, propionato e butirato, principais ácidos graxos, são então absorvidos e utilizados pelo ruminante.

Os principais produtores de H_2 são os organismos que produzem ácido acético na via de fermentação, gás que não se acumula no rúmen, sendo usado por microrganismos metanogênicos que também estão presentes no ambiente fermentativo, e o oxidam para produzir CH_4 (Moss et al., 2000). Este processo, denominado metanogênese é realizado para gerar energia, e ocorre a partir dos produtos da fermentação, principalmente H_2 , CO_2 , formiato, acetato e butirato, embora outras moléculas também possam ser substrato para a metanogênese (McAllister et al., 1996). Esse processo de produção de CH_4 , envolvendo fermentação/metanogênese durante a digestão dos ruminantes, é conhecido como fermentação entérica.

A fermentação entérica pode variar amplamente, dependendo de fatores como o tipo de animal, quantidade e tipo de alimento, ambiente, adição de gordura dietética, aditivos alimentares e peso corporal do animal (Moss et al., 2000).

⁵Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) – Base de dados SIDRA, Pesquisa Pecuária Municipal. Disponível em <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2016>

No último inventário nacional, para o ano de 2010, foram estimados fatores de emissão de CH₄ para animais de todo País considerando-se características do rebanho, como raça, peso médio por categoria de sexo, idade e propósito, assim como o clima, digestibilidade da dieta, estimativas de consumo, taxa de prenhez etc., tendo em conta dados publicados, bases de dados oficiais, exercícios de modelagem matemática e conhecimentos de especialistas (Fig. 6).

Verifica-se que a mediana para as diferentes categorias adultas varia entre 53 a 64 kg CH₄/cab/ano, enquanto para os animais jovens, que consomem menos alimentos, o fator de emissão se concentra próximo de 42 kg CH₄/cab/ano. No caso das fêmeas, os maiores fatores de emissão estão associados a dieta complementar de maior valor energético requerida para aleitamento dos bezerros, ou mesmo para a produção comercial de leite, dietas que variam fortemente em função do manejo adotado em cada estado do Brasil.

Figura 6 - Variação no fator de emissão de CH₄ entérico para bovinos do Brasil categorizados por propósito, sexo e idade (Dados obtidos do relatório setorial de Agricultura⁶).

⁶Números obtidos do relatório setorial da Agricultura, subsetor Fermentação Entérica e Manejo de Dejetos (<http://sirene.mcti.gov.br/publicacoes>)

As fezes dos animais depositadas na pastagem também são fonte de CH₄ na bovinocultura. Porém, enquanto as emissões entéricas estão na casa das dezenas de kg de CH₄ ao ano, as emissões das fezes por animal não ultrapassam poucas unidades de kg CH₄ ao ano. Avaliações das emissões das fezes feitas no Brasil mostram números ainda menores, inferiores a 1 kg CH₄/cab/ano (Tabela 2).

Tabela 2 - Fatores de emissão de CH₄ de fezes bovinas medidos em diferentes localidades no Brasil a partir de excretas frescas aplicadas ao solo

Local	Dias de monitoramento	kg CH ₄ cab ⁻¹ ano ⁻¹	Referência
Piracicaba, SP	48	0,04	Mazzetto et al (2014)
Ariquemes, RO	62	0,08	Mazzetto et al (2014)
Seropédica, RJ	14	0,95	Cardoso et al. (2016)

As mais recentes estimativas feitas para 2014 mostram que a Agropecuária contribuiu com 12,6 milhões de toneladas de CH₄ no Brasil (MCTI, 2016). As emissões entéricas da bovinocultura de corte responderam por 9,6 Mt CH₄, ou 76 % desse total, enquanto que a bovinocultura leiteira contribuiu com outros 11 %. As emissões de CH₄ das excretas de todos os bovinos corresponderam a 2,1 % do total. Assim, a bovinocultura produziu, em 2014, 11,3 Mt CH₄.

A produção de N₂O em pastagens decorre majoritariamente da deposição de excretas no solo. A urina concentra muito N na forma de ureia, que fica prontamente disponível ao chegar ao solo, e os processos de nitrificação e desnitrificação do N que chega ao solo resultam em emissões de N₂O. Uma parte se perde por volatilização de amônia e nitrificação, embora esta última via não tenha se mostrado significativa em estudo realizado em Latossolo dos Cerrados (Lessa et al., 2014). As emissões de N₂O que ocorrem após a deposição da excreta é denominada de emissão direta, enquanto que as emissões que ocorrem após a deposição

no solo do N que foi volatilizado ou do que foi lixiviado é convencionalmente chamada de emissão de N_2O indireta (Alves et al., 2012).

Alguns estudos realizados no Brasil mostram que as emissões de N_2O das fezes são bem menores do que as emissões da urina (Tabela 3). Verifica-se também que os fatores de emissão de N_2O , ou seja, a fração do N da excreta que se converte em N_2O , são bem menores do que 2 g $N-N_2O/100$ g N, que é considerado como um valor médio global para bovinos pelo IPCC (2006). Este fator global é aplicado tanto para urina quanto para as fezes, o que estaria em conflito com as pesquisas nacionais.

Tabela 3 - Fatores de emissão de N_2O de urina e fezes bovinas medidos em diferentes localidades no Brasil a partir de excretas frescas aplicadas no solo

Local	Tipo de excreta	Período Dias	Fator de emissão g $N-N_2O$ 100 g ⁻¹ N excreta	Referências
Curitiba, PR	Urina	270	0,26	Sordi et al. (2014)
Sto.Ant.Goiás, GO	Urina	158	1,20	Lessa et al. (2014)
Ariquemes, RO	Urina	62	0,23	Mazzetto et al (2015)
Seropédica, RJ	Urina	14	3,56	Cardoso et al. (2016)
Piracicaba, SP	Urina	29	0,20	Barneze et al. (2014)
Média			1,09	
Curitiba, PR	Fezes	270	0,15	Sordi et al. (2014)
Sto.Ant.Goiás, GO	Fezes	158	0,01	Lessa et al. (2014)
Seropédica, RJ	Fezes	14	0,18	Cardoso et al. (2016)
Média			0,33	

Assim, para estimar as emissões de N_2O de excretas no Brasil, é razoável considerar que o fator de emissão das fezes seja a metade daquele para urina, o que resultaria em um fator de

emissão direta médio para as excretas bovinas de 1,5 g N-N₂O/100 g N, número que vem sendo usado no inventário nacional de GEEs.

A pesquisa para avaliar fatores de emissão indireta de N₂O é complexa, e por isso os números globais que foram desenvolvidos pelo IPCC (2006) sempre são considerados.

Na avaliação de emissões de N₂O de pastagens, a fertilização nitrogenada deve ser considerada, pois é prática realizada por alguns produtores. De acordo com dados da ANDA⁷ (2016), aproximadamente 1,5 % do N aplicado na agricultura nacional foi utilizado em pastagens, número que se manteve aproximadamente igual até 2016.

Considerando-se a produção de excretas de bovinos e a utilização de fertilizantes em pastagens, a estimativa de emissão direta de N₂O, em 2014, foi de 0,16 Mt N₂O, enquanto que as emissões indiretas foram de 0,13 Mt N₂O (Brasil, 2016a). O uso de fertilizantes nitrogenados contribuiu apenas com 1,6 mil toneladas de N₂O entre emissões diretas e indiretas, ou apenas 0,55 % das emissões das excretas.

No total, as emissões totais de N₂O dos bovinos corresponderam a 52 % das emissões totais de N₂O da agropecuária.

INTEGRANDO EMISSÕES E REMOÇÕES

As emissões de CH₄ e N₂O são estimadas para o rebanho bovino do País, que em 2014 era de 212,4 milhões de cabeças. Logo, as emissões médias por cabeça em 2014 foram de 53,2 kg de CH₄ e de 1,37 kg N₂O. Somam-se a essas emissões, aquelas da mudança de uso e uso do solo com pastagens, que seriam próximas de 1 Mg CO₂/ha, tendo que conta que as emissões líquidas se mantiveram em níveis muito reduzidos de 2010 a 2014 (Fig. 5). Considerando que a área de pastagem se manteve em 172 Mha, a taxa de lotação média seria de 1,2 animais por hectare, ou

⁷Associação Nacional para Difusão de Adubos (<http://www.anda.org.br>) – Anuário estatístico de 2016. Disponível apenas na forma impressa para aquisição junto a ANDA.

seja, a emissão por animal em função das áreas com pastagens seria de aproximadamente 800 kg CO₂.

Os gases de efeito estufa tem diferentes tempos de permanência na atmosfera e absorvem calor em intensidades diferentes. Por isso, foi necessário criar uma métrica para que as emissões de cada um pudessem ser adicionadas para comparar sistemas. A métrica que vem sendo adotada globalmente é o poder de aquecimento global do gás (PAG ou GWP em inglês), que é uma medida da quantidade de calor que a emissão de uma massa conhecida de um gás absorverá durante um determinado período de tempo, em relação à emissão da mesma massa de CO₂. Segundo essa métrica, 1 kg de CH₄ equivale a 28 kg de CO₂, e 1 kg de N₂O equivale a 298 kg CO₂ (Myhre et al., 2014).

Aplicando-se as equivalências dos gases e adicionando-se as emissões de CO₂ dos solos sob pastagens, as emissões de CH₄ entéricas e das fezes e de N₂O das excretas e fertilizantes, todas estimadas por cabeça de bovino, encontra-se uma emissão em equivalentes de CO₂ de 2,7 Mg/cabeça, ou aproximadamente 8,2 kg CO₂/kg peso vivo, considerando um animal médio do rebanho bovino (corte e leite) com 330 kg⁸.

Essa estimativa de emissão de GEE é bem próxima da obtida por Cerri et al. (2016) após análise de 22 fazendas típicas de Mato Grosso, que juntas continham 78.950 cabeças, distribuídas em cerca de 60.000 ha, e representavam o ciclo completo de criação até engorda. Embora no artigo concluam sobre emissões por ganho de peso, seus dados foram, de fato, estimados para 1 kg de peso vivo (ver comentários de Boddey et al., 2016), tal como a estimativa do presente estudo.

Em 2014, a “Agricultura” foi responsável por 33 % das emissões nacionais. Em equivalentes de CO₂, as emissões da bovinocultura corresponderam a 76 % das emissões da “Agricultura” e a 25 % das emissões totais nacionais. As emissões da bovinocultura equivaleram a 1,6 vezes as emissões do

⁸Número estimado considerando-se as proporções de cada categoria animal no rebanho bovino nacional e os respectivos pesos médios considerados no relatório setorial da Agricultura (<http://sirene.mcti.gov.br/publicacoes>)

transporte rodoviário e a 68 % das emissões fósseis totais do país, nesse mesmo ano, o que justifica e torna urgente a ação governamental e o envolvimento do setor para em um esforço conjunto tornar a atividade pecuária bovina, a mais eficiente possível.

REFERÊNCIAS

- Alves, B.J.R.; Carvalho, A.M. Jantalia, C.P.; Madari, B.E.; Urquiaga, S.; Santos, J.C.F.; Santos, H.P.; Carvalho, C.J.R. Emissões de óxido nitroso e óxido nítrico do solo em sistemas agrícolas. *In: Estoques de carbono e emissões de gases de efeito estufa na agropecuária brasileira*, Brasília, DF: Embrapa, 2012 p159-191.
- Anacleto, T.C.S.; Mizlara, F. Expansão de fronteiras e impactos socioambientais no Cerrado Matogrossense. **Geografia**, v. 31, p. 527-538, 2006.
- Barneze, A.S.; Mazzetto, A.M.; Zani, C.F.; Misselbrook, T.; Cerri, C.C. Nitrous oxide emissions from soil due to urine deposition by grazing cattle in Brazil. **Atmospheric Environment**, v. 92, p. 394-397, 2014.
- Bernoux, M.; Carvalho, M.C.S.; Volkoff, B.; Cerri, C.C. Brazil's soil carbon stocks. **Soil Science Society of America Journal**, v. 66, p. 888-896, 2002.
- Boddey, R.M.; Cardoso, A.S.; Alves, B.J.R. Response to 'Assessing the carbon footprint of beef cattle in Brazil: a case study with 22 farms in the State of Mato Grosso'. **Journal of Cleaner Production**, v. 121, p. 198-199, 2016.
- Boddey, R.M.; Jantalia, C. P.; Conceição, P.C.; Zanatta, J.A.; Bayer, C.; Mielniczuk, J.; Dieckow, J.; Santos, H.P.; Denardin, J.E.; Aita, C.; Giacomini, S.J.; Alves, B.J.R.; Urquiaga, S. Carbon accumulation at depth in Ferralsols under zero-till subtropical agriculture. **Global Change Biology**, v. 16, p. 784-795, 2010.
- Boddey, R.M.; Xavier, D.; Alves, B.J.R.; Urquiaga, S. Brazilian agriculture: the transition to sustainability. **Journal of Crop Production**, v.9, p.593-621, 2003.
- Brasil, Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI). 2016. **Terceira Comunicação Nacional do Brasil à Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre Mudança do Clima** – Volume III. MCTI. 2016. 336 p. 2016b.

- Brasil, Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações. **Estimativas anuais de emissões de gases de efeito estufa no Brasil**. 3ª. Edição, 2016. SEPED, Coordenação Geral do Clima: Brasília, DF, pp. 1-83. 2016a
- Braz, S.P.; Urquiaga, S.; Alves, B.J.R.; Jantalia, C.P.; Guimarães, A.P.; dos Santos, C.A.; dos Santos, S.C.; Pinheiro, E.F.M.; Boddey, R.M. Soil carbon stocks under productive and degraded Brachiaria pastures in the Brazilian Cerrado. **Soil Science Society of America Journal**, v. 77, p.914-928, 2013.
- Cardoso, A.S.; Alves, B.J.R.; Urquiaga, S.; Boddey, R.M. Effect of volume of urine and mass of faeces on N₂O and CH₄ emissions of dairy-cow excreta in a tropical pasture. **Animal Production Science** - <http://dx.doi.org/10.1071/AN15392>
- Cerri, C.C.; Silva Moreira, C.; Alves, P.A.; Raucci, G.S.; Castigioni, B. de A.; Mello, F.F.C.; Cerri, D.G.P.; Cerri, C.E.P. Assessing the carbon footprint of beef cattle in Brazil: a case study with 22 farms in the State of Mato Grosso. **Journal of Cleaner Production**, v. 112, p. 2593-2600, 2016.
- Costa, N.L.; Townsend, C.R.; Magalhães, J.A.; Paulino, V.T.; Araújo, R.G. Recuperação e renovação de pastagens degradadas. **Revista Eletrônica de Veterinária REDVET**, v.7, n.1, p.9-49, 2006.
- Fagundes, J.L.; Fonseca, D.M.; Moraes, R.V.; Mistura, C.; Vitor, C.M.T.; Gomide, J.A.; Nascimento Junior, D.; Santos, M.E.R.; Lambertucci, D.M. Avaliação das características estruturais do capim-braquiária em pastagens adubadas com nitrogênio nas quatro estações do ano. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 35, n. 1, p. 30-37, 2006.
- IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. 2006. Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories. **Greenhouse Gas Inventory Reference Manual**, vol. 4. Disponível:<<http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/vol4.html>>
- IPCC. Summary for policymakers. In: Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. **Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change** [Field, C.B., V.R. Barros, D.J. Dokken, K.J. Mach, M.D. Mastrandrea, T.E. Bilir, M. Chatterjee, K.L. Ebi, Y.O. Estrada, R.C. Genova, B. Girma, E.S. Kissel, A.N. Levy, S. MacCracken, P.R. Mastrandrea, and L.L.White (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2014, pp. 1-32.
- Johnston, A.E., Poulton, P.R.; Coleman, K. 2009. Soil organic matter: its importance in sustainable agriculture and carbon dioxide fluxes. **Advances in Agronomy**, 101, 1-97.

- Lashof, D.A.; Ahuja, D.R. Relative contributions of greenhouse gas emissions to global warming. **Nature**, v. 344, p. 529-531, 1990.
- Lessa, A.C.R.; Madari, B.E.; Paredes, D.S.; Boddey, R.M.; Urquiaga, S.; Jantalia, C.P.; Alves, B.J.R. Bovine urine and dung deposited on Brazilian savannah pastures contribute differently to direct and indirect soil nitrous oxide emissions. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 190, p.104-111, 2014.
- Lima, S.S.; Alves, B.J.R.; Aquino, A.M.; Mercante, F.M.; Pinheiro, E.F.M.; Sant'Anna, S.A.C.; Urquiaga, S.; Boddey, R.M. Relação entre a presença de cupinzeiros e a degradação de pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p.1699-1706, 2011.
- Mazzetto, A.M.; Barneze, A.S.; Feigl, B.J.; Van Groenigen, J.W.; Oenema, O.; Cerri, C.C. Temperature and moisture affect methane and nitrous oxide emission from bovine manure patches in tropical conditions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 76, p. 242-248, 2014.
- Mazzetto, A.M.; Barneze, A.S.; Feigl, B.J.; Van Groenigen, J.W.; Oenema, O.; De Klein, C.A.M.; Cerri, C.C. Use of the nitrification inhibitor dicyandiamide (DCD) does not mitigate N₂O emission from bovine urine patches under Oxisol in Northwest Brazil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 101, p. 83-92, 2015.
- McAllister, T.A.; Okine, E.K.; Mathison, G.W.; Cheng, K.J. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 76, p. 231-243, 1996.
- Mello, F.F.C.; Cerri, C.E.P.; Davies, C.A.; Holbrook, N.M.; Paustian, K.; Maia, S.M.F.; Galdos, M.V.; Bernoux, M.; Cerri, C.C. Payback time for soil carbon and sugar-cane ethanol. **Nature Climate Change**, v. 4, p. 605-609, 2014.
- Moss, A.R.; Jouany, J.P.; Newbold, J. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. **Annals of Zootechny**, v. 49, p. 231-253, 2000.
- Myhre, G.; Shindell, D.; Bréon, F.-M.; Collins, W.; Fuglestad, J.; Huang, J.; Koch, D.; Lamarque, J.-F.; Lee, D.; Mendoza, B.; Nakajima, T.; Robock, A.; Stephens, G.; Takemura, T.; Zhang, H. Chapter 8: Anthropogenic and Natural Radiative Forcing. In: **Climate Change 2013: The scientific basis** [Stocker, T.F., Qin, D., Plattner, G.-K., Tignor, M., Allen, S.K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V., Midgley, P.M. (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, UK, and New York, USA. 2013.

- Oliveira, O.C. de; Oliveira, I.P. de; Alves, B.J.R.; Urquiaga, S.; Boddey, R.M. Chemical and biological indicators of decline/degradation of *Brachiaria* pastures in the Brazilian Cerrado. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.103, p.289-300, 2004.
- Parton, W.J.; Schimel, D.S.; Cole, C.V.; Ojima, D.S. Analysis of factors controlling soil organic levels of grassland in the Great Plains. **Soil Science Society of America Journal**, v. 51, p. 1173-1179, 1987.
- Rezende, C.P.; Cantarutti, R.B.; Braga, J.M.; Gomide, J.A.; Pereira, J.M.; Ferreira, E.; Tarre, R.; Macedo, R.; Alves, B.J.R.; Urquiaga, S.; Cadisch, G.; Giller, K.E.; Boddey, R.M. Litter deposition and disappearance in *Brachiaria* pastures in the Atlantic forest region of the South of Bahia, Brazil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 54, p. 99-112, 1999.
- Sant'Anna, S.A.C., Jantalia, C.P., Sá, J.M., Vilela, L., Marchão, R.L., Alves, B.J.R., 2016. Changes in soil organic carbon during 22 years of pastures, cropping or integrated crop/livestock systems in the Brazilian Cerrado. **Nutrient Cycling in Agroecosystems** <http://dx.doi.org/10.1007/s10705-016-9812-z>.
- Santos, C.A.P.; Sano, E.E. Formação da frente de expansão, frente pioneira e fronteira agrícola no oeste da Bahia. **Boletim de Geografia**, v. 33, p. 68-83, 2015.
- Santos, R.; Santos, M.; Oliveira, I.P.; Moraes, R.F.; Urquiaga, S.C.; Boddey, R.M.; Alves, B.J.R. Componentes da parte aérea e raízes de pastagens de *Brachiaria* spp. em diferentes idades após a reforma, como indicadores de produtividade em ambiente de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 37, p.119-124, 2007.
- Sordi, A.; Dieckow, J.; Bayer, C.; Albuquerque, M.A.; Piva, J.T.; Zanatta, J.A.; Tomazi, M.; Rosa, C.M.; Moraes, A. Nitrous oxide emission factors for urine and dung patches in a subtropical Brazilian pastureland. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 190, p. 94-103, 2014.
- Tarré, R.; Macedo, R.; Cantarutti, R.B.; Rezende, C.P.; Pereira, J.M.; Ferreira, E.; Alves, B.J.R.; Urquiaga, S.; Boddey, R.M. The effect of the presence of a forage legume on nitrogen and carbon levels in soils under *Brachiaria* pastures in the Atlantic forest region of the South of Bahia, Brazil. **Plant and Soil**, v. 234, p. 15-26, 2001.
- Zanchi, F.B.; Waterloo, M.J.; Aguiar, L.J.G.; Von Randow, C.; Kruijt, B.; Cardoso, F.L.; Manzi, A.O. Estimativa do índice de área foliar (IAF) e biomassa em pastagem no estado de Rondônia, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 39, p. 335-348, 2009.

DOENÇAS ASSOCIADAS À REPRODUÇÃO E FATORES QUE IMPACTAM O DESEMPENHO REPRODUTIVO DE GADO DE CORTE: ETIOLOGIA, DIAGNÓSTICO E CONTROLE

Jairo Pereira Neves

*Programa de Pós-Graduação em Reprodução, Sanidade e Bem-estar Animal
Universidade José do Rosário Vellano – UNIFENAS
ALFENAS – MG*

INTRODUÇÃO

O Brasil destaca-se como o segundo maior produtor de bovinos no panorama mundial, e é um dos maiores exportadores de carne com um efetivo formado por mais de 200 milhões de cabeças dos quais 135 milhões são de corte (ANUALPEC, 2015). A reprodução é considerada como o fator de maior impacto na rentabilidade pecuária afetando diretamente o padrão de produtividade sendo dependente de fatores nutricionais, sanitários, genéticos e de um manejo adequado. Desta forma, a principal meta para garantir a lucratividade em fazendas de cria é a obtenção de uma menor idade de parto para as novilhas, um menor intervalo entre partos e uma elevada taxa de prenhez.

Nesta época em que se pretende maximizar a produção através da utilização de biotecnologias como inseminação artificial em tempo fixo – IATF, transferência de embriões, fecundação *in vitro* para alcançar uma progressão genética, tanto maior será a exigência de uma ótima eficiência reprodutiva. A implementação irresponsável dessas tecnologias em rebanhos que ainda não apresentam condições mínimas de sanidade, alimentação e manejo, não conseguirá compensar essas deficiências, mas sim comprometer ainda mais os custos de produção pela sua ineficiência.

Serão tratadas as principais patologias e fatores que promovem um maior impacto na eficiência reprodutiva de rebanhos de corte, no Brasil, considerando a literatura pertinente, experiência

profissional e conhecimento do autor. É pertinente lembrar que as características reprodutivas geralmente apresentam baixos a médios valores de herdabilidade, evidenciando a importância do efeito ambiente e na sua expressão final. Neste sentido, estratégias de manejo adequadas, de melhorias nas práticas de criação e da capacitação de pessoal envolvidos em todo o processo resultam em melhorias significativas nos índices reprodutivos (Costa-e-Silva, 2013).

Considerando a importância, entendimento e a facilidade de diagnóstico as questões serão apresentadas em tópicos.

DESENVOLVIMENTO

Anestro pós-parto prolongado

De modo a produzir um bezerro por ano as vacas devem conceber, em média até 85 dias após o parto. Para que isso ocorra o período de anestro pós-parto não pode se prolongar por mais de 60 dias. A reprodução é o processo fisiológico mais importante para a preservação de qualquer espécie. No entanto, a partição de nutrientes indica que a reprodução não é a atividade de maior prioridade nas vacas de corte no período pós-parto. A condição necessária para que as vacas concebam novamente e gerem outro produto será conquistada somente quando existirem condições mínimas de sobrevivência do bezerro recém-nascido, bem como suprimento de suas condições próprias de vida. Esta condição coincide com a escassez de nutrientes existente nos trópicos, onde o manejo é feito extensivamente com base em forragens perenes com baixa qualidade nutricional. Não é novidade que a falta de nutrientes, representado por energia e proteína, inibe o processo reprodutivo caracterizado pela retomada do ciclo estral aumentando a idade ao primeiro parto, intervalo entre partos reduzindo a prenhez (Joubert, 1954; Wiltbank et al, 1962; 1963; Dunn et al., 1969; Santos, 1998; Yavas e Walton, 2000; Pires et al.2004; Montiel e Ahuja, 2005).

Esta situação de subnutrição provoca supressão de gonadotrofinas, diminuição de resposta ao GnRH exógeno, atraso na pulsatilidade de LH, diminuindo a sua liberação e prolongando o retorno da atividade cíclica. Zhang et al. (1994) e Zieba et al. (2004) consideraram a leptina, hormônio produzido no tecido adiposo, como sinalizador do *status* nutricional ao hipotálamo indicando a condição para a liberação ou não destas gonadotrofinas. Segundo Ferreira (1995) as principais causas do anestro prolongado são a excessiva perda de peso (balanço energético negativo) nas primeiras semanas após o parto em vacas de condição corporal regular a boa ao parto. Tanto em vacas de corte como de leite ocorre supressão das funções reprodutivas quando não são devidamente supridas por uma condição corporal adequada. O pique de produção de leite ocorre de 4 a 6 semanas antes do momento de capacidade máxima de ingestão de matéria seca, fazendo com que os animais de alta produção apresentem um período pós-parto de balanço energético negativo. As vacas nestas condições apresentam níveis sanguíneos de ácidos graxos não esterificados elevados, juntamente com baixas concentrações de IGF-I, glicose e insulina. Essa condição sanguínea compromete a retomada da atividade ovariana e, conseqüentemente a fertilidade (Santos e Amstalden, 1998).

Muitos estudos evidenciam também que a retomada do estro e a ovulação são afetadas pela amamentação principalmente em vacas de corte pelo fato de amamentarem seus produtos de forma constante, comparado com as de leite. A interrupção temporária, definitiva ou mesmo a implantação de um regime de mamadas interrompidas provocam uma redução deste anestro. Fonseca, 1991 demonstrou que a racionalização do manejo na amamentação, em vacas de corte, traz resultados significativos sobre o encurtamento do intervalo parto-concepção. A amamentação é um fator inibidor da secreção tônica de GnRH e LH. Outro mecanismo é a elevação do nível de cortisol provocado pela sucção e ejeção do leite (Wagner & Li, 1982). Há uma clara associação entre alta produção de leite e seus efeitos na redução

da fertilidade, evidenciado no maior tempo de manifestação do primeiro estro e ovulação e maior tendência de apresentarem interrupções no período cíclico, notadamente quando submetidas a condições nutricionais inadequadas (Peters & Ball, 1987). No entanto, este efeito da lactação sobre a retomada da atividade ovariana é atenuado com o transcorrer deste período pós-parto. Há, pois o consenso de que não se pode separar os efeitos da produção leiteira de outros fatores, particularmente os nutricionais.

Dentre as providências que vem sendo utilizadas para minimizar os efeitos do anestro pós-parto prolongado destacam-se o desmame precoce, diferimento de pastagens destinadas às vacas prenhes bem como a indução e sincronização do ciclo estral e ovulação, através de programas hormonais bem conhecidos atualmente como IATF.

Prada e Silva (2005) consideram que a nutrição inadequada é uma das principais causas da infertilidade e do baixo desempenho reprodutivo em fazendas de cria. O objetivo principal do sistema de alimentação para fêmeas bovinas deverá ser fundamentado na obtenção de um escore corporal igual ou maior que 6 para as novilhas e igual ou maior que 5 para as vacas multíparas (1-9) de modo a reduzir o anestro pós parto e o intervalo entre partos. O programa de alimentação suplementar deve ser baseado em alimentos volumosos. Os suplementos concentrados devem ser utilizados em pequenas quantidades sempre visando otimizar o consumo de forragens. Considera também que é viável a correção da fertilidade do solo e conservação de forragens para o período seco do que a suplementação com concentrados energéticos.

Indiscutivelmente a suplementação alimentar seria a maneira fisiológica mais adequada de se melhorar a taxa de concepção em bovinos de corte. Entretanto, essa decisão torna-se limitada a fatores político-econômicos do custo do produto (Kg de carne). Por esta razão as pesquisas são necessárias para geração e conhecimento e de tecnologias para serem aplicadas, ou não, de acordo com a

capacidade de aumentar os índices reprodutivos com custos compatíveis a realidade de mercado nacional e internacional.

Os sistemas disponíveis para redução do intervalo parto-concepção devem ser empregados de acordo com as condições de manejo e nutrição dos rebanhos, respeitando as peculiaridades das propriedades. Os sistemas conhecidos como IATF permitem esta redução de intervalo parto-concepção, parição concentrada, antecipação da prenhez na temporada de monta, padronização de bezerros e aumento da eficiência dos índices de desmame refletindo diretamente na redução, racionalização da mão de obra e, sobretudo possibilitar o melhoramento genético através da utilização de sêmen de efetivo padrão melhorador. Porém, é de competência do médico veterinário escolher a alternativa mais apropriada às condições de cada estabelecimento com o objetivo de atingir o maior índice de prenhez pós-parto, nas empresas criatórias de gado de corte.

Falhas na concepção

Considera-se que existe falha na concepção ou morte embrionária precoce quando uma vaca retorna ao serviço três ou mais vezes devido a impedimentos da fecundação ou inviabilização do desenvolvimento embrionário, antes do 16º dia do ciclo. As causas são muito diversificadas, porém algumas etiologias poderão ser detectadas mediante avaliação clínica, ultrassonográfica de uma avaliação integral do manejo reprodutivo do estabelecimento incluindo os machos e todos os passos da inseminação artificial. Outras são dependentes de exames mais apurados como bacteriológicos, citológicos, histopatológicos, dosagens hormonais, ultrassonográficos até análises cromossômicas entre outras. Destacam-se como ocorrências mais frequentes os catarros genitais inespecíficos (endometrites), ovulação retardada, salpingites, infertilidade masculina e questões relacionadas à inseminação artificial.

As infecções genitais inespecíficas pós-puerperais, também denominadas de catarros genitais são as inflamações que afetam o

útero (endometrites e metrites), o cervix (cervicites) e a vagina (vaginits) de forma isolada ou simultaneamente. São geralmente sequelas de infecções puerperais ou consequência de lesões na mucosa genital, fragilidade dos mecanismos imunológicos ou inflamatórios teciduais subordinados ao sistema endócrino. Durante determinadas fases estrais, parto e pós-parto quando as barreiras estão lesadas o sistema endócrino atua no sentido de aumentar a resistência contra as infecções (Chebel, 1989; Marques Junior, 1993). Os estrógenos promovem uma maior resistência contra as infecções, ao passo que a progesterona tem efeito contrário. As causas, bem como o diagnóstico clínico e laboratorial são bem conhecidas (Neves, 1976; Aragão et al, 1984; Cordeiro et al., 1992). A redução da fertilidade ocorre considerando que o processo inflamatório promove lesões endometriais e alterações do ambiente uterino, cujos efeitos são dificuldade no transporte e sobrevivência espermática, mas principalmente impossibilidade do desenvolvimento embrionário. Os tratamentos mais utilizados são infusões intrauterinas com antissépticos ou antibióticos, antibiótico terapia; sistêmica (mais efetiva) e tratamentos hormonais com esteroides ou prostaglandinas (Bretzlaff, 1986; Grunert & Bertold, 1988; Marques Junior, 1993; Neves & Souza, 1986).

A ovulação retardada caracteriza-se por um atraso ovulatório de 24/48 horas além do momento fisiologicamente esperado após o final do estro (Grunert, 1988). Incide em 15-20% dos casos de vacas com repetição de serviços, e tem como causa uma deficiência de LH. O diagnóstico pode ser realizado mediante palpações retais e monitoramentos ecográficos sucessivos.

As salpingites são os processos inflamatórios das tubas, causados principalmente por infecções ascendentes, provenientes do útero ou contíguas, do peritônio. O diagnóstico fundamenta-se no aumento de diâmetro, presença de conteúdo uterino e aderências, passíveis de detecção ultrassonográfica. Entretanto tem sido relatadas ocorrências de lesões inflamatórias tubáricas em peças de matadouro.

O estresse por calor vem sendo considerado um dos principais fatores de falha reprodutiva, incluindo danos ao desenvolvimento e maturação oocitária, desenvolvimento embrionário inicial e fetal, lactação e endocrinologia reprodutiva. Como exemplo, receptoras de embriões proporcionam menor taxa de prenhez quando apresentam maior temperatura de pele e a diferença na prenhez poderá chegar até 25%. Doadoras Nelore diminuem a taxa embrionária quando submetidas a condições estressantes de calor. Os oócitos e embriões bovinos são sensíveis ao estresse por calor, principalmente do proestro até o terceiro dia pós-inseminação, quando a expressão gênica embrionária depende do genótipo, *Bos taurus* e *Bos indicus*. Embora os embriões dos genótipos taurinos sejam mais sensíveis, vacas zebuínas também são afetadas pelo calor e umidade excessivas.

Uma boa rotina de manejo pode contribuir para evitar baixa taxa ovulatória, baixa qualidade embrionária, de corpo lúteo assim como perda embrionária/fetal. Atitudes tais como pancada, elevação da voz, utilização de ferrões proporcionam estresse e redução da eficiência reprodutiva.

A observação de estro foi sempre um dos pontos de maior estrangulamento da inseminação artificial, pois depende tanto da manifestação espontânea como também da sua observação. Desde a utilização de programas de IATF tem sido utilizada a programação da ovulação, independentemente da necessidade de controle do estro.

A presença de touros subférteis e estéreis é outro aspecto não aparente e poucas vezes percebido pelos criadores (Radostits et al., 1994). Segundo um levantamento de Gottschall & Mattos (1997), no Estado do Rio Grande do Sul de 10 a 30% dos touros apresentaram baixa qualidade seminal. Dentre as patologias mais comumente encontradas nas avaliações andrológicas destaca-se a degeneração testicular caracterizada como um conjunto de alterações do parênquima testicular que causam disfunções bioquímicas e variações estruturais nas células da linhagem germinativa, levando este tecido a uma condição de menor

atividade (Garcia, 2017). As causas são múltiplas e podem estar às sequelas de inflamações provocadas pela ação de agentes infecciosos específicos ou inespecíficos, fatores nutricionais, distúrbios do termo regulação escrotal lesões vasculares, causas medicamentosas, uso de anabolizantes, dentre outras. Não existe um levantamento unificado que indique as causas desta patologia, porém uma vez que parte dos animais de produção é criada em regiões em que prevalece o clima tropical, é provável que as condições de estresse calórico assumam posição de destaque como causa desta alteração. (Garcia, 2007; Barros et al., 1991). Dentre as características seminais mais afetadas pela degeneração testicular a que mais sofre impacto é a morfologia espermática.

O clima quente além de atrasar a puberdade pode levar estes animais a quadros clínicos degenerativos, de intensidade variável, dependendo das características adaptativas de cada raça. Também são observadas variações sazonais no perímetro escrotal e na qualidade espermática. A exposição direta dos testículos a altas temperaturas provoca alterações do ciclo espermatogênico e, por períodos prolongados, pode levar a processos degenerativos irreversíveis.

Os parâmetros seminais dentre os quais a queda da motilidade e o aumento da percentagem de células com defeitos na morfologia sinalizam a influência negativa da temperatura refletindo também na capacidade de sobrevivência *in vitro* dos espermatozoides, provenientes principalmente de touros europeus. Neste mesmo sentido, os zebuínos apresentam alterações no pH seminal e na congelabilidade do sêmen cerca de três semanas após terem sido submetidos a uma temperatura acima de 33°C.

A disponibilização de sombra é uma estratégia desejável para minimizar os efeitos do calor sobre a puberdade de machos e também sobre a atividade reprodutiva de bovinos adultos. Características individuais de adaptabilidade devem ser observadas antes da aquisição de touros para regiões mais críticas mediante uma avaliação genética para adaptabilidade. As raças

européias possuem menor eficiência de termo regulação corporal em relação às zebuínas por uma série de razões que a tornam menos eficientes do ponto de vista adaptativo. Neste contexto, como exemplo, considera-se o menor número de glândulas sudoríparas dos europeus, superfície de pele, densidade de pelos maiores dos zebuínos facilitando as trocas de calor com o ambiente, entre outros fatores. A variabilidade entre indivíduos ou entre linhagens dentro de uma mesma raça constitui valioso recurso para o desenvolvimento de trabalhos de melhoramento genético com vista a identificação de animais mais adaptados e, portanto, com melhor eficiência reprodutiva.

O efeito da hierarquia já está bem evidenciado em touros europeus. Em zebuínos, embora sejam mais cooperativos observa-se o privilégio do acasalamento para os animais dominantes. A estabilidade social e mesmo o tempo de convivência dos touros afeta a sua atividade sexual. A variação da idade dos touros dentro de um mesmo grupo reforça os efeitos da dominância. Touros mais velhos tendem a produzir maior número de descendentes em relação aos jovens quando num mesmo grupo (Chenoweth, 1981).

Conforme destacam Celeghini et al., 2017) a inseminação artificial (IA) figura como uma biotécnica importante na aceleração do ganho genético, e sua aplicação vem ganhando destaque na bovinocultura nacional em função do avanço no desenvolvimento de protocolos hormonais para uso na IA em tempo fixo (IATF) (Baruselli et al., 2004; Sá Filho et al., 2010). Com isso houve um impulso na comercialização de doses de sêmen nos últimos 14 anos aumentando em mais de 100%, sendo que no ano 2000 foram comercializadas 5 milhões de doses de sêmen em 2014 mais de 13 milhões de doses, representando a proporção de 59% para o gado de corte e 41% para o gado de leite (ASBIA, 2014). A fertilização envolve um processo complexo que para a célula espermática ser capaz de completar sua função, precisa, além de alcançar o local de fertilização, penetrar o ovócito e ativar o desenvolvimento embrionário o que requer muitos atributos espermáticos.

Perdas embrionárias

Infecções que ocasionam mortalidades embrionárias e fetais são responsáveis por mais de 50% dos problemas reprodutivos em bovinos de todo o mundo. Várias classes de micro-organismos, destacando-se entre elas bactérias, vírus e protozoários, podem infectar o trato reprodutivo trazendo consequências deletérias às fêmeas bovinas e, principalmente ao conceito, embrião ou feto (Alfieri, A & Alfieri, A., 2017). Algumas infecções têm importância apenas para os animais enquanto outras podem, além dos animais, apresentar reflexos negativos em termos de saúde pública, pois se constituem em zoonoses. Algumas infecções apresentam reflexos regionais e outras os reflexos podem ser sentidos em toda a cadeia produtiva nacional independentemente da região geográfica onde ocorreu. Entretanto, há ainda infecções que por sua importância em todo o mundo podem apresentar consequências inclusive para o comércio internacional de produtos e subprodutos de origem animal (Alfieri et al., 2013; Silva et al., 2016). Um dos principais entraves que impactam negativamente é o comprometimento que infecções apresentam no desempenho reprodutivo do rebanho. Os parâmetros afetados são os seguintes: intervalo entre partos; taxa de retorno ao cio; taxa de abortamento; taxas de prenhez aos 30, 60 e 90 dias pós-cobertura ou IA e número de doses de sêmen por prenhez (Dias et al., 2010). Infecções ocasionadas por bactérias e vírus podem comprometer tanto o trato reprodutivo da fêmea e do macho quanto o conceito em qualquer das suas fases de desenvolvimento. Endometrites, ooforites, vulvo vaginites, assim como balanopostites, são as consequências mais comuns ocasionadas por infecções do trato reprodutivo bovino. Entretanto as infecções que comprometem o trato reprodutivo são mais impactantes para o conceito. Em decorrência pode ocorrer mortalidade embrionária precoce, e consequente repetição de serviços a intervalos regulares e irregulares; mortalidade fetal com consequente aborto, mumificação ou maceração fetal; natimortalidade ou neonatal. Com isso a forma de apresentação do problema reprodutivo não permite que o diagnóstico clínico

determine qual o agente causador do problema constatado no rebanho. Assim o diagnóstico definitivo será possível com a determinação do agente etiológico por meio de exames laboratoriais. Dentre as mais importantes infecções diagnosticadas no Brasil destacam-se: Rinotraqueíte infecciosa bovina, Diarreia viral (BVDV), Leptospirose, Vulvovaginites, Campilobacteriose, Trichomonose ou Trichomoníase e a Neosporose.

Com relação ao controle e profilaxia, para alguns patógenos estão disponíveis no mercado vacinas que ao longo do tempo demonstraram eficiência. Para outros, entretanto, devido à constituição antigênica do patógeno, ou não foram desenvolvidos imunógenos ou sua eficiência tem sido questionada. Em geral as vacinações devem seguir as recomendações dos fabricantes. No entanto, para se conseguir uma resposta imune mais efetiva as imunizações devem ser procedidas em fêmeas, com intervalo de 21 a 30 dias, por ocasião do desmame. Assim ao entrarem para a atividade reprodutiva terão melhor condição de responder ao estímulo antigênico. Para as vacas de corte o ideal é que sejam vacinadas em período imediatamente anterior ao início da estação da reprodução, independentemente do método utilizado (monta, IA ou IATF). Com isso reduz-se consideravelmente os casos de mortalidade embrionária tanto precoces como tardias. No caso da Leptospirose, os níveis adequados de imunidade atual apenas por 6 meses exigindo vacinações semestrais (Aono et al., 2013; Pereira et al., 2013).

Doenças infecciosas de ocorrência endêmica e que comprometem a eficiência reprodutiva de rebanhos bovinos no Brasil são muito recorrentes. A IBR, BVD e Leptospirose são as mais importantes, pois ocorrem em todas as regiões brasileiras tanto em rebanhos de corte como de leite, com diferentes graus de tecnificação. Conhecer a epidemiologia dessas infecções nos rebanhos pelos quais somos responsáveis pela gestão sanitária é de fundamental importância para que possamos atingir as metas pré-determinadas compatíveis a expectativa de resposta de cada rebanho.

Outro fator a ser considerado é a mortalidade embrionária em vacas hipertérmicas (acima de 39°C, para as raças europeias) que tem como causa alterações na síntese de proteínas do embrião, envolvidas no desenvolvimento e reconhecimento materno fetal. Além disso, a atividade secretora do endométrio uterino é alterada em resposta ao estresse térmico e contribui para menor fertilidade (Bertipaglia, 2007; Oliveira et al, 2012).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O diagnóstico das patologias e fatores que afetam a eficiência reprodutiva nos bovinos de corte podem ser determinados considerando seus efeitos no ciclo estral, como por exemplo, na ocorrência de anestro, na repetição de serviços e por último no acompanhamento gestacional. Esta estratégia permite aos profissionais maior facilidade na busca de solução para os problemas que afetam a eficiência reprodutiva.

Como instrumentos para este diagnóstico devem ser utilizados os exames ginecológicos, incluindo, em especial a detecção precoce de prenhez, o controle puerperal, os exames andrológicos com uma frequência e profundidade compatíveis com as peculiaridades dos estabelecimentos e complexidade dos problemas. Quanto mais elevados forem os índices obtidos num estabelecimento tanto maior cuidado será necessário para manter este estágio. Estas ações devem ser aferidas periodicamente pelos índices conhecidos como por exemplo, idade da primeira cria, intervalo entre partos, intervalo entre parto e nova concepção, padrão genético.

Paralelamente devem ser observadas as condições nutricionais, o programa de controle sanitário incluindo diagnósticos laboratoriais, vacinações e cuidados na aquisição de animais bem como as amplas condições que possam proporcionar o bem-estar dos mesmos englobando ambiente, estresse, utilização de funcionários com capacidade de realização das atividades atendendo aos princípios de tranquilidade e respeito as peculiaridades da espécie.

Por último, deve-se ressaltar que o emprego de biotecnologias tais como IATF, transferência de embriões, FIV somente trará benefícios com base na existência de uma condição mínima razoável de eficiência reprodutiva e mercado capaz de suportar os custos com estas implementações. As condições de mercado oscilam em razão da situação econômica e da política do setor.

REFERÊNCIAS

- Alfieri, A.A.; Leme, R.; Alfieri, A.F.** Tecnologias para o manejo sanitário de qualidade de doenças infecciosas na bovinocultura de corte: In: Oliveira, R.L. Barbosa, M.A.A.F. (Org). Bovinocultura de corte; desafios e tecnologias. 2ª ed. Salvador, BA: Editora da Universidade Federal da Bahia, 2013. V.1, p. 115-132.
- Alfieri, A.A.; Alfieri, A.F.** Doenças infecciosas que impactam a reprodução de bovinos. Rev. Bras. Reprod. Animal, Belo Horizonte, v.41, n.1, p. 133-139, 2017.
- Aono, F.H, Cooke, R.F., Alfieri, A.A. Vasconcelos, J.L.M.** Effects of vaccination against diseases on reproductive performance of beef cows submitted to fixed-timed AI in Brazilian cow-calf operations. Theriogenology, v.79, p 242-248, 2013.
- Aragão, F.M.; Schild, A.L.A.P., Pimentel, C.A.** Biópsia uterina no diagnóstico de metrite em bovinos. Rev. Bras. Reprod. Animal, Belo Horizonte, v.8, n.2, p. 101-111, 1984.
- Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA).** Relatório Anual, São Paulo: ASBIA, 2014.
- Baruselli, P.S.; Reis, E.L.; Marques, M.O.; Nasser, L.F.; Bó, G.A.** The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. Anim. Reprod. Sci., v 82/83, p 479-486, 2004.
- Barros, D.V.; Silva, L.K.X.; Lourenço Junior, J.B.; Silva, A.O.A.; Silva, A.G.M.; Franco, I.M.; Oliveira, C.M.C. Tholon, P.; Martorano, L.G.; Garcia, A. R.** Evaluation of thermal comfort, physiological, hematological, and seminal features of buffalo bulls in artificial insemination station in a tropical environment. Tropical Animal Health and Production, v. 47, p 805-813, 1991.

- Bertipaglia, E.C.A.** Efeitos das características do pelame e da taxa de sudação sobre parâmetros reprodutivos em vacas da raça Braford. 2007. 163f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária – Produção Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Câmpus de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, São Paulo, Brasil, 2007.
- Bretzlaff, K.** Factors of importance for the disposition of antibiotics in the female tract. In: Morrow D.A. Current therapy in Theriogenology. 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p. 34-47, 1986.
- Celeghini, E.C.C.; Arruda, R.P.; Florez-Rodriguez, S. A.; Santos, F. B.; Alves, M. B. R.; Oliveira, B. M. M.** Impacto da qualidade do sêmen sobre a fertilidade a campo em bovinos. Rev. Bras. Reprod. Animal, Belo Horizonte, v.41, n.1, p. 40-45, 2017.
- Chebel, R.J.** Infecções uterinas na vaca. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 1989. Belo Horizonte, Anais... Belo Horizonte; CBRA, 1989, p. 215-219.
- Chenoweth, P. J.** Libido and mating behaviour in bulls, boars and rams; a review. Theriogenology, v.16, p155-177, 1981.
- Cordeiro, J.L.F.** Características etiológicas, citológicas e histopatológicas de alterações uterinas de vacas leiteiras com catarro genital. Santa Maria-RS. 88p. Tese (Mestrado em Fisiopatologia da Reprodução) – Curso de Pós-graduação em Medicina veterinária, UFSM, 1988.
- Costa-e-Silva, E. V.; Macedo, G. G.; Rueda, P. M.; Araújo, D. G.; Zúccari, C. E. S. N.** Ambiente e comportamento no manejo reprodutivo. In: ROSA, A. do N.; MARTINS, E. N.; MENEZES, G. R. de O.; SILVA, L. O. C. da (Ed.). Melhoramento genético aplicado em gado de corte: Programa Geneplus-Embrapa. Brasília, DF: Embrapa; Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2013. Capítulo 3, p. 27-38.
- Dias, F.C.; Medici, K.C.; Alexandrino, B.; Medeiros, A.S.R., Alfieri, A.A.; Samara, S.I.** Ocorrência de animais persistentemente infectados pelo vírus da diarreia viral bovina em rebanhos bovinos nos estados de Minas Gerais e São Paulo, Pesq. Vet. Bras., v.30. p.933-939, 2010.
- Dunn, T.G.; Ingalls, J.E.; Zimmermann, D.R.; Wiltbank, J.N.** Reproductive performance of 2-year-old Hereford and Angus heifers as influenced by pre- and post-calving energy intake. J. Anim. Sci., v 57, p 719, 1969.

- Ferreira, A. M.** Novos conceitos sobre o anestro pós-parto. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 11, 1995. Belo Horizonte, Anais... Belo Horizonte; CBRA, 1995, p. 62-70.
- Fonseca, V.O.** Redução do período de serviço em vacas de corte. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 9, 1991, Belo Horizonte, Anais... Belo Horizonte, CBRA, 1001, p. 1-21.
- Garcia, A. R.** Degeneração testicular: um problema superado ou ainda um dilema? Rev. Bras. Reprod. Animal, Belo Horizonte, v.41, n.1, p. 33-39, 2017.
- Gottschall, C.S.; Mattos, R.C.** Achados de exames andrológicos em touros de corte *Bos taurus* e *Bos indicus*. Rev. Bras. Reprod. Anim, Belo Horizonte, v.21, p 25-28, 1997.
- Grunert, E.; Berchtold, M.** Infertilidad en la vaca. Buenos Aires. Hemisfério Sur, 1988, 475p.
- Joubert, D.M.** The influence of winter nutritional depressions on the growth, reproduction and production of cattle. J. Agric Sci.,v.44, p. 5-66, 1954.
- Marques Junior, A. P.** Fisiologia do Puerpério na Vaca. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 10, 1993, Belo Horizonte, Anais... Belo Horizonte, CBRA, 1993, p. 58-69.
- Montiel, F.; Ahuja, C.** Body condition and suckling as factors influencing the duration of post-partum anestrus in cattle: a review. J. Anim. Sci., v 85, p 1 – 26, 2005.
- Neves, J.P.** Características clínicas, bacteriológicas e histopatológicas de endometrites pós-puerperais em bovinos. Santa Maria-RS. 50p. Tese (Mestrado em Fisiopatologia da Reprodução) – Curso de Pós-graduação em Medicina veterinária, UFSM, 1976.
- Neves, J. P.; Souza, J.S.** Incidência de catarros genitais em vacas com cria e efeito do tratamento com lugol. Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v.10, n,1, p 11-16, 1986.
- Neves, J.P.; Gonçalves, P.B.D., Oliveira, J.F.C.** Fatores que afetam a eficiência reprodutiva na vaca. Rev. Bras. Reprod. Anim., v. 23, n.2, 1999.
- Oliveira, M.S.; Tiburcio, M., Ferreira, S.G.C.** Influência Estresse Térmico sobre a Reprodução de Bovinos de Corte. VI Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica. 23 a 26 de outubro de 2012. CESUMAR – Centro Universitário de Maringá. Maringá – PR.

- Pampori, Z.A.; Huozha, R.; Shah, K.A., Andrabi, S.A., Tauseef Amin.** Stress versus Reproduction in Animals. Vet Scan, on line veterinary journal, 2010, v.5, (2), article 61.
- Pereira, M.H.C.; Cooke, R.F.; Alfieri, A.A.** Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of lacting dairy cows submitted to AI. Anim Repr Sci, v. 137, p 156-162, 2013.
- Peters, A.R. & Ball, P.J.H.** Reproduction in Cattle. London: Butterwords, 191p, 1987.
- Pires, A.V.; Araújo, R.C.; Mendes, C.Q.** Fatores que interferem na eficiência reprodutiva de bovinos de corte. In: Simpósio sobre bovinocultura de corte; Pecuária de corte intensiva nos trópicos, 5, 2004. Piracicaba, Anais...Piracicaba: ESALQ, 2004. P. 355-398,
- Prada e Silva, L.F.** Interface da nutrição com a reprodução: o que fazer? In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 16, 2005, Goiânia, GO, Anais... Palestras, Belo Horizonte, CBRA, 1 – 13.
- Radostits, O. M.; Leslie, K. E. Fetrow, J.** Herd Health: Food Animal Production Medicine. 2 ed. Philadelphia W.B. Saunders, 1994, 631p.
- Sá Filho, M. F.; Crespilho, A.M. Santos, J.E.P. Perry, G.A. Baruselli, P.S.** Ovarian follicle diameter at time insemination and estrus response likelihood of ovulation and pregnancy after estrus synchronization with progesterone or progestin-based protocols sukled *Bos indicus* cows. Anim Reprod Sci, v.120, p.23-30, 2010.
- Santos, J.E.P.** Efeitos da nutrição na Reprodução Bovina. In: Congresso Brasileiro de Raças Zebuínas, 3, 1998, Uberaba: ABCZ, p 123-164, 1998.
- Santos, J.E.P.; Amstalden, M.** Effects of Nutrition on Bovine Reproduction. Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS, v. 26, n.2, p. 2-4, 1997.
- Silva, M.C.P.; Gonçalves, V.S.P.; Mota, A..L.A.L.; Koloda, M.; Ferreira Neto, J.S. Grisi-Filho, J.H.H.; Dias, R.A.; Amaku, M.; Telles, E.O. Ferreira, F.; Heinemann, M.B. Alfieri, A.A.; Muller, E.E..** Prevalence and herd level risk factors for bovine tuberculosis in the State of Paraná, Brazil. Semina Ci Agr, v.37, p 3611-3624, 2016.
- Wagner, W.C.; Li, P.S.** Influence of adrenal corticosteroids on pituitary and ovarian function. In: Factors Influencing Fertility in the Post-Partum cow. H. Karg & Schallenberger (eds). The Hague, Martinus Nijhoff.

Wiltbank, R.H.; Rowden, W.W.; Ingalls, J.E.; Gregory, K.E.; Koch, R.M. Effect of energy level on reproductive phenomena of mature Hereford cows. J. Anim. Sci., v21, p 219, 1962.

Wiltbank, R.H.; Rowden, W.W.; Ingalls, J.E.; Zimmermann, D.R. Influence of post-partum energy level on reproductive performance of Hereford cows restricted in energy intake prior to calving. J. Anim. Sci., v 23, p 1049, 1963.

Yavas, Y.; Walton, J.S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. Theriogenology, v.55, p41-46, 1992.

Zhang, Y., Proença, R.; Maffei, M.; Barone, M.; Leopold, L.; Friedman, J.H. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature, v.372, p.425-432, 1994.

Zieba, D.A.; Amstalden, M.; Morton, S.; Maciel, M.N.; Keisler, D.H.; Williams, G.L. Regulatory roles of leptin at the hypothalamic-hypophyseal axis before and after sexual maturation in cattle. Biol. Reprod., v.71, p. 804-812, 2004.

NOVAS PERSPECTIVAS NAS TÉCNICAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM GADO DE CORTE

**Pietro Sampaio Baruselli, Flávia Morag Elliff, Laísa Garcia da Silva,
Claudiney Martins, Bernardo Marcozzi Bayeux, Marcos Henrique
Alcantara Colli, Rodolfo Daniel Mingoti**
FMVZ-USP

INTRODUÇÃO

No cenário mundial da pecuária de corte, o Brasil tem uma participação expressiva, por ser o maior exportador de carnes e o segundo maior produtor (Carvalho & Zen 2017). Em 2017, apesar do Brasil ter passado por uma crise política e econômica, houve crescimento de 4,5% nas vendas externas de carne bovina nos primeiros 9 meses do ano em comparação ao mesmo período do ano de 2016 (Cepea, 2017). É importante salientar que a produtividade tem aumentado ao longo da história da pecuária nacional. Na atualidade está se produzindo cada vez mais carne em menor área de pastagem. Segundo a ABIEC (2016), o rebanho nacional será 5,7% maior em 2025, com redução de 5,4% na área de pastagens, com aumento de 20% na produtividade quando comparado com os dados de 2015. Para que esse aumento de produtividade seja também acompanhado pelo melhoramento genético, os produtores tem a possibilidade de fazer o uso das biotécnicas da reprodução. Dentre as biotecnologias, a produção de embriões *in vivo* e *in vitro* são as ferramentas mais eficientes para acelerar o ganho genético dentro do sistema de produção bovino, por possibilitar a multiplicação das melhores matrizes acasaladas com os melhores reprodutores.

Porém, a utilização dessa tecnologia apresenta algumas dificuldades. Para a produção de embriões *in vivo*, utilizam-se múltiplos tratamentos para sincronização e para superovulação (SOV), a inseminação artificial (IA) em momento apropriado e a lavagem uterina para colheita dos embriões, que requerem grande

quantidade de manejos com os animais. No caso da produção de embriões *in vitro* (PIV), seu sucesso depende do número e da qualidade de oócitos recuperados por doadora (complexo cumulus-oócito; CCO) após o procedimento de aspiração folicular (OPU) por ultrassonografia transvaginal. Ainda, a produção de embriões pode ser realizada com oócitos advindos de animais pré-púberes recuperados por laparoscopia (doadoras com 2 a 4 meses de idade) ou por OPU (doadoras de 5 a 12 meses). Essas doadoras ainda não estão em reprodução, o que possibilita reduzir o intervalo entre gerações e acelerar o ganho genético (Armstrong et al., 1992; Landry et al., 2016; Mapletoft and Hasler, 2005). Entretanto, devido à qualidade oocitária inferior de animais jovens, a produção de embriões ainda apresenta baixa eficiência (Majerus et al., 1999). Recentes estudos têm buscado melhorar a PIV nessa categoria com o tratamento com FSH, que aumenta o tamanho dos folículos e melhora a qualidade dos oócitos aspirados (Presicce et al., 1997; Batista et al., 2016).

Após a produção dos embriões, é importante a transferência para receptoras com elevada fertilidade. Nesse sentido, as técnicas de sincronização da ovulação são utilizadas para a transferência de embriões em tempo fixo (TETF) que, assim como as demais biotécnicas citadas, colabora para a multiplicação de animais geneticamente superiores e mais produtivos (Baruselli et al., 2010).

Essa revisão procura abordar as tecnologias utilizadas atualmente para acelerar o ganho genético e aumentar a produtividade dos rebanhos de corte no Brasil.

PRODUÇÃO DE EMBRIÕES (*in vivo* vs *in vitro*)

Segundo dados da International Embryo Transfer Society (IETS) em 2016, do total de embriões transferidos no mundo (n=1.289.569), 50,9% foram produzidos *in vitro* (n=656.931), representando aumento significativo da proporção de embriões *in vitro* em relação aos *in vivo*. Do total de embriões *in vitro* no mundo, 52,8% foram produzidos no Brasil (n=346.817), demonstrando a liderança do nosso país nessa tecnologia inovadora (IETS, 2017).

Estratégias para aumento da produção *in vivo* de embriões

Diversos estudos comprovaram que oócitos maturados *in vivo* tem maior competência de desenvolvimento quando comparado com oócitos maturados *in vitro* (Greve et al., 1987; Leibfried-Rutledge et al., 1987; MarquantLe Guienne et al., 1989; Bordignon et al., 1997; van de Leemput et al., 1999; Rizos et al., 2002). Entretanto, os protocolos de SOV para produção *in vivo* de embriões possuem a limitação da necessidade de elevado número de manejos para realização dos tratamentos de sincronização e de superovulação, para a IA e para a colheita dos embriões.

O tratamento superovulatório, a dosagem e a frequência de tratamentos são de grande importância na eficiência destes protocolos (Baruselli et al., 2015). Outro fator importante a ser considerado é o controle da emergência da onda folicular, permitindo o início pré-determinado de tratamentos para superestimulação, e a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) das doadoras (Bo et al., 2016; Baruselli et al., 2006).

Estudos foram realizados para desenvolver protocolos de SOV associado à IATF em várias raças bovinas sincronizadas com dispositivos de progesterona (P4) e benzoato de estradiol (BE) (Baruselli et al., 2006, Bó et al., 2006). Os protocolos foram desenvolvidos levando em consideração o intervalo entre o primeiro tratamento com PGF2 α e o momento da remoção da fonte de P4 (por exemplo, P-24 e P-36; Barros et al., 2010, Nogueira et al., 2002). Não houve diferenças significativas no número e qualidade de embriões transferíveis entre os tratamentos P-24 e P-36 (Baruselli et al., 2006). Portanto, ambos os tratamentos podem ser utilizados para superovular vacas *Bos taurus* e *Bos indicus* com IATF.

No entanto, devido às diferenças no diâmetro do folículo dominante no momento da divergência e ovulação em vacas Nelore (menor) e Holandesas (maior) (Gimenes et al., 2008, Sartori et al., 2001), verificou-se que o momento apropriado para indução da ovulação pode diferir entre raças e grupos genéticos (*Bos indicus* vs *Bos taurus*). Portanto, para melhorar a eficiência dos protocolos de SOV com IATF, o tratamento com GnRH ou LH para

induzir ovulação em vacas doadoras superestimuladas *Bos indicus* e *Bos taurus* deve ser feito 12 e 24h, respectivamente, após o último tratamento com FSH. A IATF é realizada 12 e 24 horas após o tratamento para induzir a ovulação. (Baruselli et al., 2006, Bó et al., 2006).

Tipo (FSH ou eCG), dosagem, e número de tratamentos com gonadotropina utilizados para SOV

Uma série de estudos foi conduzida visando reduzir o número de manejos durante SOV em doadoras (Baruselli et al., 2008). O uso de 3 doses de FSH resultou em similar produção de embriões quando comparado ao tradicional protocolo de 8 doses de FSH (Martins et al., 2008). Com base nesses estudos, foi possível reduzir o número de manejos dos animais durante o protocolo de SOV em doadoras *Bos indicus*. Entretanto, esses resultados não se confirmaram em vacas *Bos taurus*, as quais são menos sensíveis às gonadotropinas exógenas e apresentam maior metabolização hepática (Bó et al., 2006).

Considerando a necessidade de desenvolver um protocolo de superestimulação simplificado, estudos têm focado em alternativas para manter a liberação de FSH durante um período prolongado. Uma opção é o tratamento com única dose de FSH diluído em solução ácido hialurônico (polímero biodegradável; (Tríbulo et al., 2011). Vieira et al. (2015) relataram concentrações de FSH elevadas durante período prolongado (2 dias) em novilhas Holandesas tratadas com FSH diluído em solução 0,5% de ácido hialurônico. Outros estudos também relataram número similar de embriões transferíveis quando uma dose única de FSH IM (diluída em 2% de ácido hialurônico Tríbulo et al., 2011) ou duas doses de FSH IM (diluídas em 0,5 ou 1% de ácido hialurônico; Tríbulo et al., 2012) foram administradas, comparadas ao tratamento tradicional com 8 doses IM de FSH de 12 em 12 horas.

A fim de reduzir o manejo da doadora, uma série de estudos foram designados para avaliar a resposta superestimulatória após uma única dose de gonadotropina coriônica equina (eCG) no

protocolo P-36 com IATF em doadoras Nelore e Holandesas (revisado por Baruselli et al. (2008)). O tratamento com eCG (1,500, 2,000 ou 2,500 IU) resultou em um número de embriões transferíveis similar quando comparado ao tratamento com oito doses decrescentes de FSH em doadoras Nelore. Entretanto, a dose de 2,500 UI de eCG aumentou o número de folículos grandes anovulatórios no dia da recuperação dos embriões. O tratamento com eCG efetivamente reduziu o manejo da doadora, entretanto, a ajuste na doses de eCG para SOV de vacas *Bos indicus* é importante para evitar respostas superestimulatórias excessivas. Em vacas leiteiras *Bos taurus* (Holandesas), o tratamento com 2,000 ou 2,500 UI de eCG resultou em número semelhante de embriões transferíveis quando comparado ao tratamento com oito doses decrescentes de FSH. Contudo, tratamentos sucessivos com eCG (após a terceira superestimulação) resultaram em produção reduzida de embriões. Com base nesses estudos, é possível verificar que a SOV com única dose de eCG pode ser uma alternativa para reduzir o número de tratamento e facilitar o manejo, porém o uso contínuo do eCG para superestimulação pode reduzir a produção de embriões.

Estratégias para produção in vitro de embriões

A manipulação da dinâmica folicular através da sincronização da onda de crescimento folicular das doadoras pode ter influência positiva sobre os resultados da OPU-PIV. A manipulação da dinâmica folicular pode ser realizada de forma mecânica (ablação do folículo; emergência de onda 1 a 1,5 dias após ablação) ou farmacológica (GnRH, LH, hCG ou estradiol mais P4; emergência de onda 3 a 4 dias após tratamento). Em estudo realizado por nosso grupo, Martins *et al.* (2012) avaliaram o efeito da sincronização da emergência da onda de crescimento folicular, associada ou não ao tratamento superestimulatório com eCG ou ao tratamento com bST no sucesso de programas de OPU-PIV em vacas Nelore (*Bos indicus*), Brangus (*Bos indicus* x *Bos taurus*) e Holandesas (*Bos taurus*). O tratamento com eCG resultou em maior número de oócitos viáveis em doadoras

Brangus e Holandesas. Entretanto, apenas doadoras Holandesas apresentaram maior número de blastocistos por OPU quando tratadas com eCG e bST.

Em estudo realizado por Rodrigues et al. (2011), foi avaliado o efeito da superestimulação com eCG ou FSH em doadoras Brangus e Angus. Foi possível observar que o número de folículos por OPU ($18,2 \pm 1,1$ vs. $11,2 \pm 1,0$) e CCO recuperados ($9,7 \pm 1,0$ vs. $6,3 \pm 0,8$) e cultivados ($6,8 \pm 0,8$ vs. $3,3 \pm 0,5$) foram superiores em vacas tratadas com FSH comparadas com eCG.

Em estudo recente, nosso grupo de pesquisa avaliou o efeito da superestimulação com FSH em doadoras Holandesas lactantes e não lactantes submetidas a sincronização da emergência da onda folicular (Vieira et al., 2014). O tratamento resultou em maior número de embriões produzidos por OPU-PIV. Um segundo experimento foi realizado para avaliar a eficácia de um único tratamento IM de FSH combinado com 0,5% de ácido hialurônico (MAP5®) em doadoras Holandesas não lactantes submetidas à OPU-PIV (Vieira et al., 2015). A superestimulação aumentou o número de blastocistos produzidos por seção de OPU. Os resultados foram indicativos de que os tratamentos de superestimulação podem aumentar a eficiência da produção de embriões em doadoras Holandesas submetidas a programas de OPU-PIV.

Fatores que influenciam a eficiência de programas de OPU-PIV

Diversos fatores influenciam o sucesso da OPU-PIV, dentre eles pode-se destacar o grupo genético ou a raça da doadora, o estresse térmico, a nutrição e o estágio do ciclo estral. Guerreiro et al. (2014) observaram que a OPU-PIV tem resultados superiores em raças *Bos indicus* do que em raças *Bos taurus*. Fêmeas *Bos indicus* possuem maior população de folículos antrais, que está relacionada ao maior número de oócitos recuperados e viáveis para PIV (Batista et al., 2014). Gimenes et al. (2015) também demonstraram que fêmeas *Bos indicus* apresentam maior número de CCO e maior taxa de blastocistos produzidos por OPU do que fêmeas *Bos taurus*.

O estresse térmico tem sido atribuído à menor eficiência na OPU-PIV, principalmente de fêmeas taurinas criadas em regiões tropicais (Al- Katanani and Hansen, 2002, Ferreira et al., 2011). Apesar do efeito do estresse térmico sobre fêmeas *Bos taurus* estar bem estabelecido, Torres-Júnior et al. (2008) demonstraram efeito deletério prolongado (até 105 dias) na dinâmica folicular ovariana e na competência oocitária em doadoras *Bos indicus*.

Outro fator importante a ser considerado na eficiência da OPU-PIV é o estado nutricional e metabólico da doadora, que pode interferir com os padrões de crescimento folicular, secreção de hormônios reprodutivos, e qualidade oocitária em bovinos (Ashworth et al., 2009, Batista et al., 2013, Leroy et al., 2008, Sales et al., 2015).

O estágio do ciclo estral em que a OPU-PIV é realizada também pode interferir na eficiência do processo. Nosso grupo de pesquisa realizou um estudo para avaliar o efeito de diferentes fases da onda folicular no momento da OPU-PIV na eficiência da OPU-PIV em novilhas cruzadas (*Bos taurus* x *Bos indicus*; Gimenes et al., 2007). Foi utilizado BE e P4 para sincronizar a emergência da onda folicular e, as OPU's foram realizadas 2, 4 e 6 dias após a emergência da onda folicular. Maior taxa de blastocisto e blastocisto eclodido e maior número de núcleos em blastocistos eclodidos foram observados quando a OPU foi realizada no dia 2 após a onda folicular. Entretanto, em outro estudo nenhum efeito no estágio da onda folicular foi observado seja em doadoras Holandesas (*Bos taurus*) ou Nelore (*Bos indicus*; Gimenes et al., 2015). Desta forma, novas pesquisas são necessárias para estabelecer o efetivo efeito da fase da onda de crescimento folicular na eficiência da OPU-PIV.

Na PIV a quantidade de embriões produzidos está diretamente relacionada ao número de complexo cumulus-oócito (CCO) recuperados pelo procedimento de OPU, que apresenta alta repetibilidade entre doadoras (Monteiro et al., 2017). Ainda, verifica-se que os animais com elevada população folicular apresentam maior quantidade de oócitos recuperados por OPU e

maior produção de embriões por procedimento, tanto em doadoras de corte (Nelore e Senepol) como de leite (Gir e Holandês; Watanabe et al., 2017). Diversos estudos (Durlinger et al., 2002; Fanchin et al. 2003; Batista et al. 2014) correlacionaram população folicular com as concentrações plasmáticas de Hormônio Anti-Mulleriano (AMH) em diferentes espécies, inclusive na espécie bovina, tanto para animais *Bos taurus* quanto *Bos indicus*. Nosso grupo de pesquisa realizou um estudo na tentativa de estabelecer um marcador endócrino para população folicular e para eficiência da PIV, utilizando a correlação da eficiência do processo com a concentração circulante de AMH no plasma sanguíneo. Guerreiro et al. (2014) realizaram estudo em 34 doadoras Nelore e 59 doadoras Holandesas para estabelecer a relação da eficiência da OPU-PIV com a concentração de AMH. Os animais foram divididos em dois grupos, sendo um de alta e outro de baixa concentração de AMH (ponto de corte estabelecido em 1,0 ng/mL para Nelore e 0,3 ng/mL para Holandês). Foi possível observar uma correlação positiva entre a concentração plasmática de AMH e o número de folículos visualizados, o total de oócitos recuperados, o número de oócitos viáveis e o número de blastocistos produzidos. Além disso, as doadoras com maiores concentrações sanguíneas de AMH produziram mais embriões por OPU. Estes resultados sugerem que a concentração plasmática de AMH pode ser utilizada como marcador endócrino para prever a eficiência das doadoras em programas de OPU-PIV, e suportam que é possível selecionar doadoras com maior número de folículos para aumentar a eficiência da OPU-PIV em *Bos indicus* e em *Bos taurus*.

PRODUÇÃO DE EMBRIÕES DE ANIMAIS JOVENS PARA DIMINUIÇÃO DO INTERVALO DE GERAÇÕES

Atualmente a pecuária conta com grandes avanços na seleção genômica, que possibilita a identificação de animais geneticamente superiores logo após o nascimento. Esses indivíduos podem ser multiplicados precocemente pela técnica de PIVE, fazendo com que o intervalo entre gerações seja reduzido

significativamente, acelerando o ganho genético dos rebanhos (Majerus, 1999). Entretanto, apesar de novilhas pré-púberes apresentarem maior número de folículos disponíveis para aspiração (Revel et al., 1995; Landry et al., 2016), os índices da PIV desta categoria ainda são inferiores aos de animais adultos (Guerreiro, 2015).

A utilização da técnica de PIVE em animais jovens ainda apresenta comprometimentos devido à baixa competência oocitária (Majerus et al., 1999; Rizo et al., 2005; Landry et al., 2016). Além disso, o status fisiológico e reprodutivo da doadora, o tamanho do folículo e a integridade das células do *cumulus* têm ação direta sobre o desenvolvimento dos oócitos e dos blastocistos (Lonergan et al., 1994; Butler et al., 2011; Maillou et al., 2012; Guerreiro et al. 2014). Oócitos provenientes de bezerras possuem propriedades distintas, como reduzido número de mitocôndrias, de atividade enzimática e metabolismo de glutamina, piruvato e glicose além de menor distribuição dos grânulos corticais (Warzych, et al. 2017). Além disso, o ambiente folicular de novilhas difere de vacas pela composição das proteínas e pela concentração de LH e estradiol (Khatir et al., 1997). Os motivos para entender a redução no potencial de desenvolvimento dos oócitos de animais pré-púberes ainda requerem estudos (Currin et al., 2017).

Como já citado, novilhas pré-púberes apresentam maior número de folículos disponíveis para aspiração. No entanto, a competência de desenvolvimento dos oócitos recuperados ainda é baixa nesta categoria. Nosso grupo realizou estudo visando entender a correlação da alta população folicular com a eficiência da OPU-PIV em animais jovens. Avaliou-se a eficiência da OPU-PIV com a concentração plasmática de AMH e população folicular em bezerras Nelore e Holandesas (Batista et al., 2016). Todas as bezerras (30 Nelore e 24 Holandesas) foram submetidas à contagem de população folicular e foi utilizada a laparoscopia (LOPU) para aspiração folicular. Os animais foram divididos em dois grupos, de acordo com a concentração plasmática de AMH

(alta ou baixa). Foi observada correlação positiva entre a concentração plasmática de AMH e o número de folículos visualizados, número de oócitos recuperados, cultivados clivados e blastocistos produzidos em bezerras da raça Nelore e Holandesa. As bezerras com maiores concentrações sanguíneas de AMH produziram mais embriões por LOPU. Estes dados sugerem que a concentração plasmática de AMH pode ser utilizada como marcador endócrino preditivo de eficiência em programas de LOPU-PIV em bezerras.

Em outro estudo realizado pelo nosso grupo (Silva et al., 2018; dados não publicados), novilhas de 12 e 24 meses de idade da raça Nelore foram tratadas com 100mg de FSH i.m em 4 doses decrescentes. Verificou-se que o tratamento com FSH aumentou ($P=0,03$) a taxa de produção de blastocisto (novilhas 12 meses: 28% vs 18% e novilhas de 24 meses: 32% vs 35%, para animais tratados ou não com FSH, respectivamente). Entretanto, independentemente do tratamento com FSH, as novilhas de 12 meses apresentaram menor produção de embriões por OPU ($P=0,002$) quando comparadas com as novilhas de 24 meses.

Novos estudos estão sendo realizados para aumentar a produção de embriões em animais jovens para acelerar o ganho genético dos programas de melhoramento genético.

SINCRONIZAÇÃO PARA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM TEMPO FIXO (TETF)

A TETF é uma alternativa eficiente para otimizar a eficiência reprodutiva de receptoras de embrião, colaborando para multiplicação de animais geneticamente superiores, com índices reprodutivos que justificam a sua aplicação em rebanhos de corte (Baruselli et al., 2010). Utilizando as técnicas de sincronização e de resincronização, estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa avaliaram simultaneamente a eficiência das biotecnologias de IATF e de TETF. Foram utilizadas 634 vacas Nelore lactantes submetidas a um de quatro tratamentos: duas IATF consecutivas (2IATF; n=160), IATF seguida de TETF (IATF/TETF; n=160), TETF seguida de IATF (TETF/IATF; n=158) e duas TETF consecutivas (2TETF; n=156). Os embriões foram produzidos *in vitro* e transferidos a fresco. A taxa de prenhez após o primeiro serviço foi superior nos manejos com 2IATF (59,4 %; 95/160) e IATF+TETF (59,4 %; 95/160), quando comparadas aos manejos com TETF+IATF (31,7 %; 50/158) e 2TETF (32,7 %; 51/156, Figura 1). Ainda, verificou-se que a taxa de prenhez acumulada (1º+2º serviço) foi inferior nos animais que receberam 2 TETF ($P < 0,0001$), conforme representação gráfica abaixo (Figura 1).

Figura 1 - Taxa de prenhez ao primeiro e segundo serviço (ressincronização no momento do diagnóstico de gestação) em vacas de corte (*Bos indicus*) submetidas a quatro manejos reprodutivos: 2IATFs (n=160), IATF seguida de TETF (IATF/TETF; n=160), TETF seguida de IATF (TETF/IATF; n=158) e 2TETFs (n=156). Adaptado de Martins et al. (2014).

Visando reduzir os efeitos negativos na taxa de prenhez com a utilização da TETF, foi realizado um estudo com a ressincronização precoce, quando todos os animais iniciam o protocolo 22 dias após a ovulação e a gestação é diagnóstica no dia 30 (retirada do dispositivo de P4). Vacas Nelore lactantes (n=360) receberam uma TETF, seguido de 2 IATF em uma estação de monta de 64 dias. Verificou-se que a taxa de prenhez à TETF foi de 44,2%, seguida de 55,7% na primeira IATF e de 47,1% na segunda IATF, totalizando 86,9% de prenhez ao final da estação de monta. Esses dados são indicativos de que é possível utilizar a

TETF no primeiro serviço, seguido de rápida ressincronização com IATF sem comprometer a eficiência reprodutiva na estação de monta de rebanhos de corte (Figura 2).

Figura 2 - Taxa de prenhez a TETF e a IATF em vacas Nelore lactantes (n=360). Adaptado de Claudiney Martins, 2016 (dados não publicados).

CONCLUSÃO

Na atualidade existe tecnologia para produzir embriões em larga escala de doadoras com elevado potencial genético e produtivo, colaborando para acelerar o melhoramento genético da pecuária de corte. Ainda, as técnicas de sincronização para TETF viabilizam a utilização da transferência de embriões em rebanhos de corte, com elevada eficiência reprodutiva.

REFERÊNCIAS

- ABIEC.** Perfil da Pecuária no Brasil – Relatório Anual 2016. Disponível em: http://www.newsprime.com.br/img/upload2/2016_FolderPerfil_PT.pdf.
- Al-Katanani, Y. and P. Hansen.** 2002. Induced thermotolerance in bovine two-cell embryos and the role of heat shock protein 70 in embryonic development. *Mol Reprod Dev* 62:174 - 180.
- Armstrong DT, Holm M, Irvine B, Petersen BA, Stubbings RB, Mclean D, Stevens G, Seamark RF.** Pregnancies and live birth from in vitro fertilization of calf oocytes collected by laparoscopic follicular aspiration. *Theriogenology* 1992; 38:667-678.
- Ashworth, C. J., L. M. Toma, and M. G. Hunter.** 2009. Nutritional effects on oocyte and embryo development in mammals: implications for reproductive efficiency and environmental sustainability. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364(1534):3351-3361.
- Barros, C. M., R. L. Ereno, R. A. L. Simões, P. Fernandes, J. Buratini, and M. F. G. Nogueira.** 2010. Use of knowledge regarding LH receptors to improve superstimulatory treatments in cattle. *Reprod Fertil Develop* 22:132-137.
- Baruselli, P. S., M. F. Sá Filho, C. M. Martins, L. F. Nasser, M. F. G. Nogueira, C. M. Barros, and G. A. Bó.** 2006. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 65(1):77-88.
- Baruselli, P. S., C. M. Martins, J. N. S. Sales, and R. M. Ferreira.** 2008. Recent advances in bovine superovulation. *Acta Sci Vet* 36:433–448.
- Baruselli, P. S.; Ferreira, R.M. ; Sá Filho, M. F.; Nasser, L.F.T.; Rodrigues, C. A.; Bó, G.A.** 2010. Bovine embryo transfer recipient synchronisation and management in tropical environments. *Reproduction, Fertility and Development*, v. 22, p. 67-74.
- Baruselli, P.S.; Vieira, L.M., Batista, E.O.S.; Ferreira, R.M.; Sales, J.N.S.; Gimenes, L.U.; Torres-Júnior, J.R.S.; Martins, C.M.; Sá Filho, M.F.; Bó, G.A.** Produção *in vivo* e *in vitro* de embrião bovino : Atualizações sobre estratégias de produção de embriões. Anais da XXIX Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, Gramado, 2015.

Ashworth, C. J., L. M. Toma, and M. G. Hunter. 2009. Nutritional effects on oocyte and embryo development in mammals: implications for reproductive efficiency and environmental sustainability. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364(1534):3351-3361.

Batista EOS, Macedo GG, Sala RV, Ortolan MDDV, Sá Filho MF, Del Valle TA, Jesus EF, Lopes RNVR, Rennó FP, Baruselli PS. Plasma anti-Mullerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) and *Bos indicus* (Nelore) heifers. *Reproduction of Domestic Animals* 2014; 49:448-452.

Batista EOS, Guerreiro BM, Freitas BG, Silva JCB, Vieira LM, Ferreira RM, Rezende RG, Basso AC, Lopes RNVR, Rennó FP, Souza AH, Baruselli PS. Plasma anti-Mullerian hormone as a predictive endocrine marker to select *Bos taurus* (Holstein) and *Bos indicus* (Nelore) calves for in vitro embryo production. *Domestic Animal Endocrinology* 2016; 54:1-9.

Bó, G. A., P. S. Baruselli, P. Chesta, and C. M. Martins. 2006. The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. *Theriogenology* 65:89-101.

Bordignon V, Morin N, Durocher J, Bousquet D, Smith LC. 1997. GnRH improves the recovery rate and the in vitro developmental competence of oocytes obtained by transvaginal follicular aspiration from superstimulated heifers. *Theriogenology* 48:291±298.

Butler, SAA; Atkinson, PC; Boe-Hansen, G. B.; Burns, B. M.; Dawson, K.; Bo, G. A.; McGowan, M. R. Pregnancy rates after fixed-time artificial insemination of Brahman heifers treated to synchronize ovulation with low-dose intravaginal progesterone releasing devices, with or without eCG. *Theriogenology* 2011; 76(8):1416–1423.

Carvalho TB, De Zen S. A cadeia de pecuária de corte no Brasil: evolução e tendências. *Revista iPECEGE* 2017; 3 (1):85-99.

Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada – ESALQ USP. Índices Exportação do Agronegócio – 3º trimestre de 2017. Disponível em: https://www.cepea.esalq.usp.br/upload/kceditor/files/Cepea_ExportAgro_3S_EMESTRE_2017.pdf.

- Curriu L, Michalovic L, Bellefleur A, Gutierrez K, Glanzner W, Schuermann Y, Bohrer RC, Dicks N, Rosa PR, Cesaro MP, Lopez R, Grand F, Vigneault C, Blondin P, Gourdon J, Baldassare H, Bordignon V.** The effect of age and length of gonadotropin stimulation on the in vitro embryo development of Holstein calf oocytes. *Theriogenology* 2017; 104:87-93.
- Durlinger ALL, Gruijters MJG, Kramer P, Karels B, Ingraham HA, Nachtigal MW, Uilenbroek JTJ, Grootegoed JA, Themmen APN.** Antimüllerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 2002;143:1076–84.
- Fanchin R, Schonäuer LM, Righini C, Guibourdenche J, Frydman R, Taieb J.** Serum anti-müllerian hormone is more strongly related to ovarian follicular status than serum inhibin B, estradiol, FSH and LH on day 3. *Hum Reprod* 2003;18:323–7.
- Ferreira, R. M., H. Ayres, M. R. Chiaratti, M. L. Ferraz, A. B. Araújo, C. A. Rodrigues, Y. F. Watanabe, A. A. Vireque, D. C. Joaquim, L. C. Smith, F. V. Meirelles, and P. S. Baruselli.** 2011. The low fertility of repeat-breeder cows during summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. *Journal of Dairy Science* 94(5):2383-2392.
- Gimenes, L. U., M. L. Ferraz, R. G. Almeida, F. B. R. Dias, F. M. M. Pereira, A. B. Araújo, D. C. Joaquim, Y. Watanabe, F. V. Meirelles, M. P. Beltran, D. M. Pinheiro, G. P. Nogueira, J. R. S. Torres-Júnior, H. Ayres, and P. S. Baruselli.** 2007. Efeito do dia de aspiração folicular em relação à emergência (2, 4 ou 6 dias) sobre a recuperação *in vivo* e a qualidade de oócitos bovinos - parte 1. in *Proc. 21th Brazilian Embryo Technology Society (SBTE) Annual Meeting*.
- Gimenes, L. U., M. F. Sá Filho, N. A. T. Carvalho, J. R. S. Torres-Júnior, A. H. Souza, E. H. Madureira, L. A. Trinca, E. S. Sartorelli, C. M. Barros, J. B. P. Carvalho, R. J. Mapletoft, and P. S. Baruselli.** 2008. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology* 69(7):852-858.
- Gimenes LU, Ferraz ML, Fantinato-Neto P, Chiaratti MR, Mesquita LG, Sá Filho MF, Meirelles FV, Trinca LA, Rennó FP, Watanabe YF, Baruselli PS.** The interval between emergence of pharmacologically synchronized ovarian follicular waves and ovum pick-up does not significantly affect in vitro embryo production in *Bos indicus*, *Bos taurus* and *Bubalus bubalis*. *Theriogenology* 2015; 83:385-393.
- Greve T, Xu KP, Callesen H, Hyttel P.** 1987. In vivo development of in vitro fertilized bovine oocytes matured in vivo versus in vitro. *J IVF Embryo Transfer* 4:281±285.

Guerreiro BM, Batista EOS, Vieira LM, Sá Filho MF, Rodrigues CA, Castro Netto A, Silveira CRA, Bayeux BM, Dias EAR, Monteiro FM, Accorsi M, Lopes RNV, Baruselli PS. Plasma anti-Mullerian hormone: an endocrine marker for in vitro embryo production from *Bos taurus* and *Bos indicus* donors. *Domestic Animal Endocrinology* 2014; 49:96-104.

Guerreiro BM. Produção in vitro de embriões de doadoras pré-púberes da raça Holandesa. 2015. 64 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

IETS. 2017. International embryo transfer society. Statistics and data retrieval committee report. *Embryo Transfer Newsletter*; 35(4).

Khatir H, Carolan C, Lonergan P, Mermillod P. Characterization of calf follicular fluid and its ability to support cytoplasmic maturation of cow and calf oocytes. *J Reprod Fertil* 1997; 111:267–75.

Landry DA, Bellefleur A, Labrecque R, Grand F, Vigneault C, Blondin P, Sirard M. Effect of cow age on the in vitro developmental competence of oocytes obtained after FSH stimulation and coasting treatments. *Theriogenology* 2016; 86:1240-1246.

Leibfried-Rutledge ML, Critser ES, Eyestone WH, Northey DL, First NL. 1987. Development potential of bovine oocytes matured in vitro or in vivo. *Biol Reprod* 36:376±383.

Leroy, J. L., T. Vanholder, A. T. Van Kneysel, I. Garcia-Ispuerto, and P. E. Bols. 2008. Nutrient prioritization in dairy cows early postpartum: mismatch between metabolism and fertility? *Reproduction in Domestic Animals* 43:96-103.

Loonergan P, Monaghan P, Rizos D, Boland MP, Gordon I. Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization, and culture in vitro. *Molecular Reproduction and Development* 1994; 37:48-53.

Maillo, V.; Rizos, D.; Besenfelder, U.; Havlicek, V.; Kelly, A. K.; Garret, M.; Lonergan, P. Influence of lactation on metabolic characteristics and embryo development in postpartum Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 2012; 95(7):3865–76.

Majerus V, Roover R, Etienne D, Kaidi S, Massip A, Dessy F, Donnay I. Embryo production by ovum pick up in unstimulated calves before and after puberty. *Theriogenology* 1999; 52:1169-1179.

- Martins, C. M., I. C. C. Santos, R. Valentim, J. N. S. Sales, P. O. Reis, G. A. Crepaldi, P. S. Baruselli, and M. J. D'occhio.** 2008. Efeito da redução do número de administrações de fsh na resposta superovulatória e na produção de embriões de doadoras nelore. *acta sci vet.*
- Mapletoft RJ, Hasler JF. Assisted reproductive technologies in cattle: a review. *Revue Scientifique Et Technique* 2005; 24(1):393-403.
- Marquant-Le Guienne B, Gerard M, Solari A, Thibault C.** 1989. In vitro culture of bovine egg fertilized either in vivo or in vitro. *Reprod Nutr Dev* 29:559±568.
- Martins CM, Reis PO, Sales JNS, Sala RV, Vieira LM, Baruselli PS.** Efeito Da sincronização da onda de crescimento folicular e do tratamento com bST ou eCG na OPU-PIV de doadoras Nelore, Brangus e Holandesas. *Anais da XXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões*, 2012.
- Monteiro FM, Batista EOS, Vieira LM, Bayeux BM, Accorsi M, Campanholi SP, Dias EAR, Souza AH, Baruselli OS.** Beef donor cows with high number of retrieved COC produce more in vitro embryos compared with cows with low number of COC after repeated ovum pick-up sessions. *Theriogenology* 2017; 90:54-58.
- Nogueira, M. F. G., B. J. Barros, A. B. Teixeira, L. A. Trinca, M. J. D'Occhio, and C. M. Barros.** 2002. Embryo recovery and pregnancy rates after the delay of ovulation and fixed time insemination in superstimulated beef cows. *Theriogenology* 57:1625-1634.
- Presicce GA, Jiang S, Simkin M, Zhang L, Looney CR, Godke RA, Yang X.** Age and hormonal dependence of acquisition of oocyte competence for embryogenesis in prepubertal calves. *Biology of reproduction* 1997; 56:386-392.
- Revel F, Mermillod P, Peynot N, Renard JP, Heyman Y.** Low developmental capacity of in vitro matured and fertilized oocytes from calves compared with that of cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 1995; 103:115-120.
- Rizos, D.; Ward, F.; Duffy, P.; Boland, M.P.; Lonergan, P.** Consequences of Bovine Oocyte Maturation, Fertilization or Early Embryo Development In Vitro Versus In Vivo: Implications for Blastocyst Yield and Blastocyst Quality. *Molecular Reproduction and Development*; 2002. 61:234±248
- Rizos, D.; Burke, L.; Duffy, P.; Wade, M.; Mee, J. F.; O'Farrell, K. J.; Macsiurta, M.; Boland, M. P.; Lonergan, P.** Comparisons between nulliparous heifers and cows as oocyte donors for embryo production *in vitro*. *Theriogenology* 2005; 63(3):939–949.

- Rodriguez, P., A. Tribulo, M. Ramos, F. L. Ongaratto, and G. A. Bó. 2011. Comparison of oocyte recovery rates and morphology obtained by opu after different hormonal treatments in cattle. in *Proc. XXVI World Buiatrics Congress*, Santiago - Chile.
- Sales, J. N. S., L. T. Iguma, R. I. T. P. Batista, C. C. R. Quintão, M. A. S. Gama, C. Freitas, M. M. Pereira, L. S. A. Camargo, J. H. M. Viana, J. C. Souza, and P. S. Baruselli. 2015. Effects of a high-energy diet on oocyte quality and in vitro embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. *Journal of Dairy Science* 98(5):3086-3099.
- Sartori, R., P. M. Fricke, J. C. P. Ferreira, O. J. Ginther, and M. C. Wiltbank. 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biology of Reproduction* 65(5):1403-1409.
- Torres-Júnior, J. R. d. S., M. d. F. A. Pires, W. F. de Sá, A. d. M. Ferreira, J. H. M. Viana, L. S. A. Camargo, A. A. Ramos, I. M. Folhadella, J. Polisseni, C. de Freitas, C. A. A. Clemente, M. F. de Sá Filho, F. F. Paula-Lopes, and P. S. Baruselli. 2008. Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 69(2):155-166.
- Tribulo, A., D. Rogan, H. Tribulo, R. Tribulo, R. V. Alasino, D. Beltramo, I. Bianco, R. J. Mapletoft, and G. A. Bó. 2011. Superstimulation of ovarian follicular development in beef cattle with a single intramuscular injection of Folltropin-V. *Animal Reproduction Science* 129(1-2):7-13.
- Tribulo, A., D. Rogan, H. Tribulo, R. Tribulo, R. J. Mapletoft, and G. A. Bó. 2012. Superovulation of beef cattle with a split-single intramuscular administration of Folltropin-V in two concentrations of hyaluronan. *Theriogenology* 77(8):1679-1685.
- van de Leemput EE, Vos PLAM, Zeinstra EC, Bevers MM, van der Weijden GC, Dieleman SJ. 1999. Improved in vitro embryo development using in vivo matured oocytes from heifers super iovulated with a controlled preovulatory LH surge. *Theriogenology* 52:335±349.
- Vieira, Lais Mendes. FMVZ Exogenous gonadotropin supplementation to increase in vitro embryo production in Holstein donors / Lais Mendes Vieira. -- 2016.77 f. : il.
- Vieira LM, Rodrigues CM, Castro Netto A, Guerreiro B,M, Silveira CRA, Moreira RJC, Sá Filho MF, Bó GA, Mapletoft RJ, Baruselli PS. Superstimulation prior to the ovum pick-up to improve in vitro embryo production in lactating and non-lactating Holstein cows. *Theriogenology* 2014; 82:318-324.

Warzych E, Pawlak P, Pszczola M, Cieslak A, Lechniak D. Prepubertal heifers versus cows – The differences in the follicular environment. *Theriogenology* 2017; 87:36-47, 2017.

Watanabe YF, Souza AH, Mingoti RD, Ferreira RM, Batista EOS, Dayan A, Watanabe O, Meirelles FV, Nogueira MFG, Ferraz JBS, Baruselli PS. Number of oocytes retrieved per donor during OPU and its relationship with in vitro embryo production and field fertility following embryo transfer. *Animal Reproduction* 2017; 14:635-644.

ESTRATÉGIAS PARA REDUZIR PATÓGENOS NA CARNE BOVINA *IN NATURA*

Guilherme Sicca Lopes Sampaio*

**Artigo técnico de 26 de abril de 2018 elaborado por Guilherme Sicca Lopes Sampaio. Contato: guilhermeslsampaio@gmail.com / guilherme.sampaio@unesp.br*

A manutenção de acordos comerciais tem sido um dos maiores desafios para a exportação da carne brasileira. Embargos comerciais por barreiras técnicas, condutas protecionistas e escândalos de corrupção tornaram-se desafios rotineiros para o segmento.

Em agosto de 2016 foi assinado o histórico acordo de equivalência dos controles sanitários entre o Brasil e os Estados Unidos da América (EUA), conforme instruções da Organização Mundial do Comércio (OMC), o que resultou no início das exportações de carne bovina *in natura* congelada para os EUA em setembro de 2016. O reconhecimento da eficiência do sistema de defesa sanitária animal brasileiro foi o resultado dos contínuos esforços para cumprir as diretrizes da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), dentre elas, a classificação do Brasil como “Risco Insignificante” para Encefalopatia Espongiforme Bovina e a contínua ampliação das áreas livres de Febre Aftosa.

Em março de 2017, a Polícia Federal deflagrou a Operação Carne Fraca, que investiga esquemas de corrupção envolvendo fiscais e empresas do setor de carnes, além da investigação de empresas menores pela venda de produtos irregulares. Este fato repercutiu, em maio de 2017, no reforço de medidas de reinspeção de produtos cárneos brasileiros destinados aos EUA, o que culminou na suspensão da importação de carne bovina *in natura* brasileira em junho de 2017. Segundo o governo americano, a suspensão ocorreu devido a elevada rejeição dos produtos brasileiros, na ordem de 11%, contra taxa mundial média de 1%. Os principais motivos apontados foram ocorrências de granulomas e abscessos, fragmentos de ossos e contaminações de origem gastrointestinal nos cortes e recortes bovinos exportados. Entretanto, nenhum

contêiner brasileiro foi rejeitado por desconformidade aos critérios microbianos exigidos.

A respeito dessas rejeições, pouco pode ser feito, uma vez que a elevada presença de granulomas e abscessos está intimamente relacionada com a vacinação dos bovinos contra a Febre Aftosa nas propriedades rurais. A presença dos adjuvantes imunológicos saponina e óleo mineral na constituição da vacina resulta em exacerbada e inevitável resposta inflamatória no tecido muscular, que se apresenta como reações granulomatosas, principalmente quando a vacina é aplicada pela via intramuscular. Além disso, práticas incorretas e condições precárias de higiene durante a vacinação propiciam a formação de abscessos. Embora seja um problema anterior ao abate, a responsabilidade pela resolução e o ônus do problema recaem sobre as indústrias e o Serviço de Inspeção Federal (SIF), por estarem no final da cadeia produtiva.

Mesmo com a redução do volume da vacina de 5 para 2 ml, a retirada do adjuvante saponina, a indicação da aplicação pela via subcutânea e a promoção de boas práticas agropecuárias, somente a proibição da exportação de carne do dianteiro terá efeito satisfatório a curto prazo, visto que estas demais condutas irão apenas minimizar o problema das reações vacinais e/ou medicamentosas na carne bovina (Figura 1).

Figura 1 - Reação vacinal e/ou medicamentosa em carcaça bovina.
Fonte: Arquivo pessoal.

A certificação do Brasil como zona livre de Febre Aftosa com vacinação pela OIE deverá ocorrer no dia 24 de maio de 2018. O próximo passo consistirá na erradicação da doença e na gradual retirada da vacinação, o que resultará em efetiva redução dessas reações, além da expansão comercial da carne bovina *in natura* brasileira.

Com o apoio do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a Polícia Federal deflagrou a Operação Trapaça, em março de 2018, a respeito da fraude na emissão de resultados de análises laboratoriais em carne de aves, principalmente de *Salmonella* spp, para fins de respaldo à certificação sanitária em alguns estabelecimentos registrados junto ao SIF. Ainda que esta operação não acometa diretamente o segmento da carne bovina, as restrições impostas pela União Europeia à importação de carne de frango afetam a credibilidade da carne brasileira.

Embora essas operações da Polícia Federal junto ao setor de carnes resultem em prejuízos a curto prazo, também são oportunidades para a cooperação entre os elos envolvidos, o fortalecimento do setor e o crescimento estável e ético a longo prazo.

No entanto, deve haver consciência social por parte das autoridades e meios de comunicação quanto à forma como esses acontecimentos são abordados e noticiados, principalmente no sentido de compreender a repercussão desses fatos na conduta da população brasileira, que consome mais de 80% da produção nacional de carnes.

Sem desmerecer a importância e a necessidade das referidas investigações e da severa punição dos envolvidos, é necessário ressaltar que a qualidade dos produtos vendidos por empresas, que são submetidas à rígida fiscalização governamental federal e internacional, além da certificação de qualidade por empresas nacionais e internacionais, não deve ser desacreditada e desqualificada por escândalos de corrupção e desvios sanitários pontuais. Visto que, na concepção popular, isto poderia resultar na valorização e procura por produtos com origem e condições sanitárias desconhecidas ou, pior ainda, oriundos do abate clandestino de bovinos, um dos principais problemas de saúde pública do Brasil, que reduziu de 29,04 para 20,38% nos últimos 10 anos (Figura 2).

Figura 2 - Evolução do abate clandestino de bovinos no Brasil de 2007 a 2017.

Fontes: (1) USDA – Foreign Agricultural Service – Global Agricultural Information Network (GAIN) – Brazil, Livestock and Products (Annual/Semi-annual); (2) IBGE - Indicadores IBGE - Estatística da Produção Pecuária (edições de março).

Confrontando os dados de abate de bovinos no Brasil divulgados pelo MAPA, pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e pelo *United States Department of Agriculture* (USDA), referentes ao ano de 2016, verifica-se que 21,00% dos abates de bovinos foram realizados sem fiscalização (Figura 2), 64,66% sob fiscalização federal e 14,34% sob fiscalização estadual ou municipal (Figura 3). A expressiva taxa de abate sem fiscalização deveria estar no centro das discussões nacionais sobre a qualidade da carne bovina comercializada, pois esta conduta ilegal, além de afetar a saúde pública e as relações comerciais, compromete o bem-estar animal, produz carne de baixa qualidade e degrada o meio ambiente devido ao inadequado descarte dos resíduos e efluentes.

Figura 3 - Proporção dos abates de bovinos no Brasil de 2007 a 2016 em estabelecimentos sob fiscalização federal (SIF) e estadual mais municipal (SIE + SIM), além dos abates clandestinos.

Fontes: (1) USDA – Foreign Agricultural Service – Global Agricultural Information Network (GAIN) – Brazil, Livestock and Products (Annual/Semi-annual); (2) IBGE - Indicadores IBGE - Estatística da Produção Pecuária (edições de março); (3) MAPA/SIGSIF – Quantidade de abate estadual por ano/espécie.

PERIGOS BIOLÓGICOS ASSOCIADOS A CARNE BOVINA

A carne bovina é um dos principais alimentos envolvidos na ocorrência de zoonoses e enfermidades veiculadas por alimentos. As bactérias *Salmonella* e *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) são os principais perigos biológicos associados à carne bovina *in natura*, tanto em aspectos de saúde pública como barreiras técnicas e comerciais.

Segundo o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) dos EUA, as salmoneloses não tifoides são a maior causa global de diarreias, sendo estimados 93 milhões de casos, que resultam em 155 mil mortes todos os anos. Estas também são a mais frequente doença transmitida por alimentos no mundo, principalmente pelos sorotipos Typhimurium e Enteritidis. Nos EUA, estima-se que as salmoneloses causem todos os anos 1,2 milhões de casos humanos, que resultam em 23 mil hospitalizações e 450 mortes, sendo os alimentos associados a 1 milhão destes casos. Entretanto, embora sejam conhecidos mais de 2500 sorotipos, somente cerca de 90 podem causar infecções em humanos e animais.

Alimentos com alto teor de umidade e proteína, como produtos lácteos, ovos, carnes e derivados, são os mais envolvidos nos surtos de salmonelose humana, principalmente quando ingeridos crus ou malcozidos.

Em relação as carnes, a maior disseminação das salmonelas é verificada nas cadeias produtivas de aves e suínos. A sua ocorrência em carcaças bovinas é baixa e os sorotipos geralmente isolados pelos pesquisadores são raramente associados aos surtos humanos.

No entanto, os bovinos são os principais reservatórios naturais de STEC e estão epidemiologicamente relacionados à maioria dos surtos e óbitos humanos (Figura 4), principalmente em decorrência da ingestão de produtos cárneos crus ou malcozidos. Em todo mundo, estima-se que STEC seja responsável por 2,8 milhões de casos de doenças agudas, que resultam em 3890 casos

de Síndrome Hemolítica Urêmica (SHU), 270 casos de insuficiência renal e 230 mortes, todos os anos.

Figura 4 - Fontes e transmissão de *Escherichia coli* patogênica no ambiente (A) e nas etapas antes (B) e após (C) abate dos bovinos ou colheita de produtos agrícolas, assim como, no processamento dos alimentos (D) e através do contato entre pessoas (E).

Fonte: Kim et al. (2017).

STEC é definida pela produção da toxina Shiga tipo 1 e/ou tipo 2, respectivamente associada a presença dos genes *stx*₁ e *stx*₂ no genoma da bactéria. Embora sejam conhecidos mais de 470 sorotipos de STEC, poucos sorotipos têm sido associados a casos humanos. Algumas cepas STEC também possuem o gene *eae*, que resulta na lesão *attaching-effacing* (lesão A/E), facilitando a aderência do patógeno nas células intestinais do hospedeiro. A

combinação destes fatores (toxina Shiga e lesão A/E) potencializa o desenvolvimento de doenças graves em humanos.

Segundo o CDC, STEC são a quarta principal causa de doença bacteriana transmitida por alimentos nos EUA, implicando em 175 mil casos humanos e custando mais de um bilhão de dólares à economia americana, todos os anos. Desde 2012, o *Food Safety and Inspection Service* (FSIS) do USDA considera sete sorotipos de *E. coli* O157:H7, O26, O45, O103, O111, O121 e O145 como adulterantes da carne bovina, conhecidos como *Big-7*, devido a maior frequência destes nos surtos humanos, sendo responsáveis por gastroenterites severas, colites hemorrágicas, SHU, insuficiência renal e óbitos.

No Brasil, o Programa Nacional de Controle de Patógenos (PNCP), que segue as regras do USDA, determina que os estabelecimentos sob fiscalização do SIF, especializados no abate ou na desossa de bovinos, realizem o monitoramento de *Salmonella* spp. e *Big-7* na carne bovina *in natura*. Além disso, as fábricas brasileiras que desejam exportar carne *in natura* para os EUA são obrigadas a implantar um programa de análise destes patógenos, por lote de produção, como requisito para a liberação de cargas e a emissão de Certificado Sanitário Internacional.

Segundo o portal RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*) da Comissão Europeia, em 2016 ocorreram cinco notificações de STEC (genes *stx*₁ e/ou *stx*₂) e uma de *Salmonella* spp. em carnes e produtos cárneos (exceto de aves) importados do Brasil. Em 2017 foram 17 notificações de STEC e uma de *Salmonella* spp. Somente duas destas 22 notificações de STEC tiveram os sorotipos identificados (O103 e O41). As ações adotadas pela União Europeia (EU) incluíram recusar importação, devolução, destruição e retirada do mercado europeu.

SISTEMA INTEGRADO DE INOCUIDADE DA CARNE BOVINA

O FSIS exerce fiscalização rigorosa quanto a ausência de patógenos na carne bovina *in natura*, principalmente no que se refere a *Salmonella* e STEC. As indústrias americanas são

obrigadas a garantir “tolerância zero” contra patógenos, o que tem sido possível por meio de robusto e integrado sistema de inocuidade alimentar, conhecido por *Food Safety System*, baseado em abordagem multi-obstáculos (*multi-hurdle approach*).

Para que esse sistema seja compreendido, primeiro é necessário conhecer o contexto histórico. Assim como a Europa foi acometida pela Encefalopatia Espongiforme Bovina, ou Mal da Vaca Louca, principalmente na década de 1990, o que conscientizou os europeus a respeito da importância das zoonoses e da inocuidade alimentar, os americanos passaram por situação semelhante com a Doença do Hambúrguer, também na década de 1990, devido ao sorotipo O157:H7 da bactéria *E. coli*.

Segundo o *National Safety Council* (NSC), essa doença foi considerada a oitava maior causa de morte acidental dos EUA em 1998. Com isso, os consumidores americanos passaram a exigir produtos seguros das autoridades sanitárias e das indústrias, as fiscalizações tornaram-se mais rígidas e as punições extremamente severas, o que resultou no fechamento de várias empresas. Em síntese, os progressos obtidos foram o resultado da combinação de mais requisitos regulatórios, da implementação dos resultados de pesquisas científicas, do aprimoramento das operações industriais e, principalmente, do compartilhamento e da integração de informações.

O *Beef Industry Food Safety Council* (BIFSCo) foi formado para permitir que pecuaristas, líderes das indústrias, autoridades sanitárias, pesquisadores e demais interessados pudessem se reunir em fóruns para discutir e encontrar soluções factíveis para os problemas. O BIFSCo auxiliou as indústrias a entenderem que inocuidade alimentar não é uma área competitiva e incentivou a colaboração e o compartilhamento de informações entre empresas concorrentes. O BIFSCo e o USDA assumiram a liderança dos esforços educacionais e atualizam periodicamente documentos teórico-práticos, que são disponibilizados gratuitamente.

Na Europa, a *European Food Safety Authority* (EFSA), e na Austrália, o *Meat Industry Services* do *Commonwealth Scientific*

and Industrial Research Organisation (CSIRO), o *Meat and Livestock Australia (MLA)* e o *Australian Meat Processor Corporation (AMPC)*, também são exemplos da cooperação entre os elos da cadeia produtiva de alimentos, gerando subsídios técnico-científicos e soluções para os problemas, além de exemplar missão educacional. Portanto, entendeu-se que inocuidade alimentar e saúde pública não são áreas para competições, rivalidades e egocentrismos.

Desde a década de 1990, diversos conceitos foram incorporados pela indústria da carne americana e, conseqüentemente, também se difundiram mundialmente, resultando no consenso internacional de que um sistema integrado de inocuidade dos produtos baseado em abordagem multi-obstáculos (teoria das barreiras), composta por estratégias adotadas tanto no pré-abate como durante o processo de abate, é a melhor forma de garantir “tolerância zero” contra patógenos na carne bovina (Figura 5).

Boas práticas agropecuárias e intervenções pré-abate podem ser adotadas para prevenir, controlar e eliminar patógenos, desde a criação dos bovinos até o momento do abate, com o objetivo de reduzir a quantidade destes e de outros contaminantes carregados pelos animais para as indústrias, o que pode representar correspondente redução destes nas carcaças e cortes cárneos.

De modo geral, as estratégias pré-abate podem ser agrupadas em três categorias de acordo com o objetivo: primeira, estratégias para reduzir a frequência de exposição do rebanho às fontes de contaminação (gestão do ambiente); segunda, estratégias de exclusão, cujo objetivo é modificar a microbiota gastrointestinal para reduzir a excreção fecal de patógenos; e terceira, estratégias para eliminar diretamente os patógenos.

Estratégias pré-abate para reduzir a exposição aos patógenos

A sazonalidade constitui-se no fator de risco mais frequente e consistentemente reportado para a excreção e a disseminação de STEC no rebanho. Portanto, medidas de prevenção e controle devem ser intensificadas durante os meses quentes do ano.

Nos EUA existe grande preocupação com a identificação e o controle de bovinos *high shedders* e dos *super shedders*, que são animais excretando respectivamente mais de 100 e 10.000 unidades formadoras de colônia por grama de fezes de um sorotipo *Big-7*. Estes animais estão incriminados nas maiores taxas de transmissão no rebanho e de contaminação cruzada.

Devido a fatores imunológicos, bezerros e novilhos possuem maior taxa de excreção de STEC do que adultos, portanto, recomenda-se a segregação do rebanho por idade ou a redução da densidade animal do piquete para diminuir a disseminação de patógenos.

Aconselha-se também manter os lotes de bovinos fechados, evitando a mistura de lotes ou a adição de novos animais ao rebanho, conhecidos como bovinos *super spreaders*, devido ao estresse e contato físico extra que é gerado para o reconhecimento e o restabelecimento das relações sociais, o que potencializa as contaminações cruzadas.

Figura 5 - Esquema das estratégias realizadas antes (A) e após (B) o abate de bovinos para reduzir patógenos na carcaça e carne *in natura*.
Fonte: Kim et al. (2017).

Restringir o contato com outras espécies e o acesso destas às fontes de água e de alimento dos bovinos são importantes medidas de biossegurança associadas à exclusão de patógenos do rebanho, assim como, a adoção de um conjunto de ações para impedir atração, abrigo, acesso e/ou proliferação de vetores e pragas.

Locais com acúmulo de matéria orgânica, como piquetes, cochos e bebedouros, têm sido associados à alta capacidade de sobrevivência e até mesmo de multiplicação de patógenos. Neste sentido, recomenda-se a frequente limpeza destes e o tratamento dos dejetos. Da mesma forma, a manutenção das baias secas por meio de um bom sistema de drenagem e alta incidência de luz solar, assim como, a adoção de boas práticas higiênico-sanitárias na propriedade rural, direcionadas tanto aos funcionários como aos equipamentos e instalações.

Algumas etapas do período pré-abate, que são inevitavelmente estressantes aos bovinos, como o transporte e a permanência dos mesmos nos currais de abate dos frigoríficos, estão sendo associadas à maior colonização e multiplicação de STEC no trato gastrointestinal (TGI) devido, por exemplo, à imunossupressão induzida por estresse. Além disso, estas etapas ocorrem em locais com alta densidade animal, o que potencializa ainda mais a contaminação cruzada da pele dos bovinos, que constitui-se na principal fonte de contaminação das carcaças. Portanto, por serem críticas à disseminação de patógenos, essas etapas devem ocorrer no menor tempo possível e com afincos aos preceitos de bem-estar animal. Nos EUA, os bovinos são abatidos poucas horas após o desembarque e não esperam de um dia para o outro nos currais de abate.

Estratégias pré-abate de exclusão dos patógenos baseadas em manejos e aditivos alimentares

A cloração da água (2-5 ppm) dos bebedouros minimiza a transmissão de *Salmonella* e STEC sem afetar a fermentação ruminal ou mesmo a resistência aos antibióticos. No entanto, os bebedouros devem ser continuamente limpos devido à baixa

eficiência antimicrobiana dos compostos clorados na presença de matéria orgânica.

Patógenos Gram-negativos, como STEC, são sensíveis à maior concentração de ácidos orgânicos voláteis e à redução do pH do TGI, que são aspectos resultantes da fermentação microbiana. Estes são alguns dos motivos pelos quais o intestino grosso é o principal local da colonização e da multiplicação destes. Portanto, manejos ou aditivos alimentares que alterem esses fatores podem modificar a excreção destes patógenos.

A extensão do jejum alimentar de bovinos pode estar associada ao aumento de STEC no TGI devido a absorção de ácidos orgânicos e a elevação do pH. Todavia, a realização de um breve período de jejum alimentar tem sido recomendada com o objetivo de reduzir o volume do TGI e a ocorrência de falhas sanitárias operacionais durante o processo de evisceração, que podem resultar na contaminação pontual de carcaças.

Por outro lado, os bovinos excretam maior quantidade de fezes nas primeiras horas do jejum alimentar. Portanto, para reduzir a contaminação da pele, aconselha-se que este seja realizado na propriedade rural, antes do embarque, em locais com baixa densidade, ao invés de ser realizado durante o transporte e a permanência dos mesmos no curral de abate do frigorífico, que são ambientes estressantes e com alta densidade.

O tipo de alimento, baseado na razão volumoso/concentrado, e a sua forma de apresentação, como inteiro, triturado, moído ou extrusado, estão diretamente relacionados à concentração de *Salmonella* e STEC no TGI. Em síntese, uma dieta com maior taxa fermentativa possui expressivo metabolismo microbiano ruminal e menor metabolismo microbiano intestinal, que resulta em maior pH e menor concentração de ácidos orgânicos voláteis no intestino grosso. Este é um dos motivos pelo qual bovinos criados em confinamento são geralmente mais acometidos por STEC do que os criados em pastagem.

Inúmeros aditivos alimentares, como a inclusão na dieta de ácidos orgânicos, aditivos fitogênicos ricos em óleos essenciais e/ou compostos fenólicos (frutas cítricas, orégano, tomilho, canela, sálvia, alecrim, sassafrás, cravo, jasmim), assim como a adição do clorato de sódio, têm sido utilizados com o objetivo de reduzir a colonização, a multiplicação e a disseminação de patógenos no rebanho bovino.

A respeito do clorado de sódio (NaClO_3), *E. coli* pode respirar em condições anaeróbicas porque reduz o nitrato a nitrito via enzima nitrato redutase. Entretanto, esta enzima não diferencia nitrato do seu análogo clorado (ClO_3^-), que é um forte oxidante. Portanto, o clorado possui ação bactericida porque leva ao acúmulo de clorito (ClO_2^-) no citoplasma, o que resulta na morte da bactéria.

O uso de probióticos, como *Lactobacillus acidophilus*, além de melhorar a performance produtiva dos bovinos, apresenta excelentes resultados na redução de patógenos, porque além de barreira física contra a colonização intestinal por estes, os probióticos podem gerar produtos da fermentação que são tóxicos aos patógenos, como ácidos orgânicos, etanol, antibióticos ou bacteriocinas.

Uma estratégia promissora de exclusão competitiva consiste na administração de cepas *E. coli* produtoras de colicinas, para dificultar a colonização do TGI por *E. coli* diarreiogênicas. Bacteriocinas, como as colicinas, são proteínas ou complexos de proteínas com atividade antibiótica, que são produzidas por determinadas linhagens de bactérias.

O uso de antibióticos, como neomicinas e tetraciclina, ao mesmo tempo que pode reduzir a excreção de STEC pela sua ação direta, também pode aumentá-la graças a supressão da microbiota competitiva no TGI. No entanto, por também serem utilizados em humanos, os seus usos profiláticos são contraindicados em razão do incentivo à resistência microbiana aos mesmos. Cuidados também devem ser tomados com relação ao uso de beta-adrenérgicos e antibióticos ionóforos devido aos resultados inconclusivos a respeito da excreção de STEC.

Estratégias pré-abate antimicrobianas diretas

A vacinação dos bovinos tem sido incentivada em diversos países para reduzir patógenos no rebanho, principalmente *E. coli* O157:H7. O objetivo consiste na formação de anticorpos no TGI dos bovinos contra estruturas específicas dos patógenos (antígenos). Nos EUA existem várias opções comerciais de vacinas contra *E. coli* O157:H7 baseadas na tecnologia SRP (*Siderophore Receptor and Porin*), que inibem o acesso das bactérias ao ferro. O ferro é requerido pelas bactérias para inúmeros processos biológicos essenciais, como a replicação. Infelizmente, alguns estudos indicam que estas vacinas não conferem proteção cruzada contra os demais sorotipos *Big-7*.

No Canadá, Austrália e Reino Unido foi utilizada a vacina comercial Econiche, com resultados muito promissores. Esta era composta por extrato de proteínas de adesão (sistema secretório tipo 3), que preveniam a aderência e a multiplicação de patógenos no TGI do bovino. Entretanto, esta vacina foi adquirida por outra empresa que decidiu cessar a produção.

Bacteriófagos são vírus que matam bactérias específicas, como *Salmonella* ou *E. coli* O157:H7. Nas propriedades rurais dos EUA, estes podem ser fornecidos na dieta ou aplicados sobre a pele dos bovinos. Nos frigoríficos, podem ser aspergidos sobre a pele nos currais de abate, nos corredores ou no boxe de insensibilização. Também podem ser aplicados imediatamente antes da esfolagem, ou mesmo sobre as carcaças. Entretanto, devido ao rápido desenvolvimento de resistência bacteriana, tem-se desenvolvido e incentivado o uso de coquetel de bacteriófagos. A seleção destes bacteriófagos deve considerar: ação contra múltiplas cepas do patógeno; coquetel elaborado por bacteriófagos que atuam em diferentes receptores, de modo a minimizar a resistência bacteriana; e seleção de bacteriófagos com ação estritamente lítica, para não haver transferência de material genético entre fagos e bactérias.

Situação das estratégias pré-abate nos EUA

Por apresentarem resultados mais consistentes, as estratégias pré-abate mais promissoras têm sido o uso de clorato de sódio e probióticos na dieta dos animais, assim como, a vacinação e o uso de coquetéis de bacteriófagos contra os patógenos Big-7 e *Salmonella*. Entretanto, o baixo custo-benefício direto, a necessidade de capacitação e a ausência de bonificações satisfatórias têm restringido a difusão e o uso destas intervenções pré-abate pelos pecuaristas norte-americanos.

Estratégias industriais – Operações sanitárias e intervenções antimicrobianas

Nos EUA, desde os primeiros surtos de *E. coli* O157:H7 na década de 1990, os resultados de inúmeras pesquisas científicas a respeito de intervenções antimicrobianas e de novas descobertas sobre a contaminação por patógenos foram implementados pela indústria da carne bovina. As indústrias alimentícias passaram a utilizar o conceito de “tolerância zero”, que adveio do programa de autocontrole Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), desenvolvido pela NASA (*National Aeronautics and Space Administration*) para garantir alimentos seguros aos astronautas.

Durante o processo de abate, o critério de “tolerância zero” contra contaminações visuais pode ser satisfatoriamente garantido por meio de adequados procedimentos sanitários operacionais e programas de autocontrole eficientes, entretanto, isto não significa “tolerância zero” contra patógenos, basicamente porque parte da contaminação das carcaças não é visível. Nesse sentido, múltiplas intervenções antimicrobianas são utilizadas, em conjunto às operações sanitárias efetivas, para reduzir os patógenos em níveis não detectáveis.

Para atender ao critério de “tolerância zero” contra patógenos, entende-se que haverá contaminação mesmo com excelentes procedimentos sanitários operacionais e que cada

intervenção antimicrobiana tem um limite de eficácia. Isso significa que práticas não sanitárias podem introduzir um nível de contaminação que irá exceder a capacidade das intervenções antimicrobianas de reduzir os patógenos para níveis não detectáveis. Também se entende que quanto maior for o tempo disponível para a fixação das bactérias e o início da multiplicação, menor será a eficiência da intervenção, portanto, as intervenções são geralmente realizadas após cada operação crítica e toda contaminação visual removida imediatamente após a constatação.

Na prática industrial norte-americana, as intervenções antimicrobianas são geralmente realizadas em até 10 minutos da ocorrência da contaminação, aspecto conhecido como “janela para fixação da *E. coli*”, ou seja, logo após cada operação crítica. Assim como, toda contaminação removida imediatamente após a constatação, que pode ser visual ou por meio de equipamentos detectores de conteúdo gastrointestinal, como a tecnologia Veritide. Portanto, operações sanitárias ineficientes, poucas intervenções antimicrobianas e remoção tardia das contaminações (somente no toalete e na inspeção final) resultam em ineficientes Pontos Críticos de Controle (PCC) do sistema APPCC que objetivam a “tolerância zero” contra patógenos.

Intervenções diretas sobre a pele, carcaça e cortes cárneos têm sido recomendadas pelos pesquisadores para reduzir microrganismos patogênicos e deteriorantes. Segundo pesquisadores do *U.S. Meat Animal Research Center* (MARC) do USDA, as intervenções podem ser divididas em cinco categorias: físicas, antimicrobianos ácidos, antimicrobianos oxidantes, térmicas e não térmicas, com expressivas diferenças na eficácia dependendo do tipo de intervenção, conforme exemplificado na Figura 6. Exemplos de intervenções físicas são lavagens com água potável, refile manual com faca e sistema *steam-vacuum*. Os tratamentos ácidos são realizados principalmente com ácidos orgânicos, sendo mais utilizados os ácidos láctico, acético e cítrico. Exemplos de antimicrobianos oxidantes são ácido peracético, água eletrolisada ácida, clorito de sódio acidificado, ozônio e ácido

hipobromoso. Os tratamentos térmicos são os mais eficientes e usados pelas indústrias, como a cabine de água quente ou de vapor d'água e o sistema *steam-vacuum*. Os tratamentos não térmicos são muito eficientes, porém ainda desconhecidos, exemplos são irradiação *E-beam*, luz ultravioleta, plasma atmosférico frio e tecnologia HPP (*high pressure processing*).

Nos EUA, muitos produtos passaram a ter alterações sensoriais devido à essas intervenções, como aspecto cozido e coloração alterada (oxidação), entretanto, os consumidores foram educados a associar essas alterações com a inocuidade do produto e o índice de aceitação foi gradualmente aumentando. Na Europa, somente os tratamentos térmicos com água potável e o tratamento com ácido láctico são aprovados, entretanto, o uso do ácido peracético está sendo avaliado, principalmente pelo EFSA, que possui a missão de aconselhamento científico sobre os riscos existentes e emergentes na cadeia alimentar.

Figura 6 - Reduções de log relativas a métodos de intervenção atualmente utilizados ou sob investigação para reduzir *E. coli* O157: H7 em superfícies de carne fresca contaminada artificialmente.

Fonte: Wheeler et al. (2014).

No Brasil, somente o sistema *steam-vacuum* tem seu uso aprovado pelo MAPA. Entretanto, o uso deste sistema é recomendado em três situações específicas: regiões de abertura da pele, áreas com contaminação visual e ação preventiva em áreas críticas de contaminação. Portanto, existe a necessidade da validação de outros tipos de intervenção antimicrobiana, comprovadamente seguras aos humanos e ao meio ambiente, no sentido de estabelecer abordagem multi-obstáculos e promover a redução de patógenos na carne bovina brasileira. Neste sentido, a

Instrução Normativa nº 30, de 9 de agosto de 2017, permite às indústrias brasileiras solicitarem a aprovação do uso de inovações tecnológicas, mediante procedimento, executado e documentado que valide seu uso. Além disso, quando a tecnologia não tiver respaldo na legislação nacional, também deverá ser apresentado experimento científico vinculado e supervisionado por instituição de pesquisa nacional ou internacional.

A melhoria das operações sanitárias e a implantação das intervenções antimicrobianas foram cruciais para o progresso da indústria americana na redução de *Big-7*, porém, não foram suficientes para reduzir *Salmonella* na mesma magnitude. Recentes estudos descobriram que os maiores linfonodos periféricos são potenciais fontes de *Salmonella* na carne bovina, o que justifica a menor eficiência dessas condutas. Em vista disso, o FSIS passou a exigir a completa remoção de seis linfonodos periféricos da carcaça (pré-escapular, axilar, pré-crural, poplíteo, ileofemural e coxal) antes da elaboração de produtos cárneos.

Estratégias industriais – Procedimentos para o controle do processo

“Você gerencia o que você mede!”. Esta frase dita por Temple Grandin demonstra a importância da adoção de procedimentos para o controle do processo pelas indústrias, que basicamente apresentam três finalidades: avaliar a performance do sistema usando critérios de controle do processo, adotar ações para garantir que o processo permaneça sob controle e planejar medidas em resposta à perda do controle do processo.

Existem duas estratégias muito eficientes para avaliar a performance do sistema. A primeira consiste no monitoramento de carcaças com o objetivo de gerar dados em tempo real sobre os procedimentos sanitários operacionais. O USDA recomenda o monitoramento de carcaças, várias vezes por turno de trabalho, nas principais operações críticas do abate (após a esfolia do traseiro, após o rolete, antes da evisceração, após a evisceração, antes da lavagem, no PCC e no resfriamento), com o objetivo de classificar e

registrar as contaminações visuais em relação ao tipo, localização e severidade, assim como, as ações corretivas adotadas.

A segunda estratégia consiste na implementação de robustos programas de amostragem e de análises microbianas, que devem ser realizados tanto para patógenos (STEC, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*), como para bactérias indicadoras da condição higiênica e sanitária, como mesófilos, enterobactérias e *E. coli* genérica. Isto porque, embora os indicadores sejam mais sensíveis para detectar tendência de falha no controle do processo, não são diretamente proporcionais aos patógenos. Estes programas devem considerar animais vivos (pele), superfícies das instalações, carcaças durante o abate e antes e após o resfriamento, ar ambiente, carne industrial, recortes e cortes.

O FSIS verificou que programas de inocuidade são mais eficientes quando os resultados das análises microbianas são usados para avaliar o processo e este é ajustado em resposta a esses resultados. Portanto, o FSIS recomenda que as indústrias incorporem procedimentos de controle estatístico de processo.

Nos EUA, entre 1993 e 1994, foi realizado um levantamento nacional de *E. coli* genérica em carcaças bovinas resfriadas. Cerca de 2112 carcaças foram avaliadas de 185 indústrias sob inspeção federal. Aproximadamente 80% dos estabelecimentos não detectaram *E. coli* genérica e 98% tiveram contagem inferior a 100 UFC/cm². A partir desses resultados, o FSIS instituiu o controle estatístico de processo para *E. coli* genérica em carcaças bovinas resfriadas, considerando que, em uma “janela móvel” de 13 amostras consecutivas, pode haver até 3 amostras positivas e nenhuma amostra acima de 100 UFC/cm² (amostragem destrutiva) ou de 3,1 UFC/cm² (amostragem não destrutiva), para se considerar que o processo esteja sob controle. O método “janela móvel”, ou *moving window*, consiste na avaliação dos resultados de um número estabelecido de amostragens consecutivas analisadas por métodos rápidos, que seria a situação prática mais próxima do controle em tempo real.

Na Austrália, também considerando estudos nacionais, o *Australian Quarantine and Inspection Service (AQIS)* do *Department of Agriculture and Water Resources* instituiu aperfeiçoados controles estatísticos de processo para as indústrias da carne, utilizando “janela móvel” de 15 amostras, tanto para *E. coli* genérica como para bactérias mesófilas em carcaças bovinas, antes e após o resfriamento, com critérios diferenciados de acordo com a categoria animal (idade, sexo). Além disso, com o reinício (*reset*) da “janela móvel” após a adoção de ações corretivas e preventivas, de modo que não ocorra mais de uma tomada de ação sobre o mesmo desvio.

Em 2010, o FSIS examinou dados informados pelas indústrias da carne americana e verificou que as indústrias com satisfatório controle de processo tinham geralmente até 5% de ocorrência de STEC. A partir deste critério, o FSIS instituiu controle estatístico de processo baseado no método “janela móvel”, com cerca de 99% de confiança estatística, para definir a perda de controle do processo “localizado” (≥ 3 amostras positivas para STEC em 10 amostras consecutivas) e o “sistêmico” (p.ex.: ≥ 7 amostras em 30 consecutivas). Esse controle utiliza os resultados da “amostragem N60” de recortes de carne, que consiste em um método também desenvolvido pelo FSIS a partir desse critério de 5%, uma vez que cerca de 60 subamostras de um lote são necessárias para determinar que a contaminação deste lote seja igual a 5%, considerando 95% de confiança estatística.

Alto nível de confiança estatística garante que, quando o limite crítico for ultrapassado, realmente terá ocorrido a perda do controle do processo e, portanto, deverão ser adotadas ações para que não sejam comercializados produtos possivelmente adulterados.

Os estabelecimentos que investigam e corrigem suas deficiências e se esforçam para aumentar o rigor dos seus critérios irão continuamente melhorar os seus processos, reduzir o percentual de resultados positivos e promover a qualidade dos seus produtos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Segundo o volume 3 do Anuário dos Programas de Controle de Alimentos do DIPOA (Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal), publicado pelo MAPA em 2017, a ocorrência nacional de *Salmonella* spp. na carne bovina *in natura* foi de 2,57% e de *Big-7* foi de 0,21% no ano de 2016. Esses bons resultados estão relacionados as condições naturalmente favoráveis do Brasil em termos de menor ocorrência de patógenos, como o predomínio de sistema produtivo extensivo ($\approx 80\%$) e de bovinos zebuínos ($\approx 90\%$), além dos satisfatórios programas de autocontrole das indústrias sob inspeção federal, principalmente as exportadoras. No entanto, além do controle desses patógenos exigidos pelos importadores, o setor de carne brasileiro precisa estudar o perfil nacional de patógenos, modernizar o parque industrial e implementar a “tolerância zero” contra patógenos, de modo a prevenir problemas, como os ocorridos na Europa e nos EUA na década de 1990.

A nova versão do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), publicada no dia 29 de março de 2017 (Decreto nº 9.013), poderá ser um divisor de águas na cadeia produtiva de carne bovina no Brasil, porque permite, incentiva e, em alguns casos, obriga a adoção de estratégias para a redução e o controle de patógenos na carne bovina. O RIISPOA foi modernizado e suas diretrizes genéricas e atemporais serão regulamentadas por normas complementares, o que permitirá contínua atualização. Essas mudanças vão ao encontro de antigas expectativas do setor e dos consumidores brasileiros.

Embora muitas das estratégias comentadas neste texto não possam ser diretamente aplicadas ou não são regulamentadas no Brasil, são importantes para conscientização, investigação e elaboração de futuras diretrizes nacionais equivalentes e condizentes com os diversos cenários produtivos da pecuária brasileira.

A carne bovina de qualidade não é um alimento barato. Promover a qualidade gera custos e os consumidores precisam estar dispostos a pagar a diferença. A educação é o melhor caminho para esta conscientização, que resulta da integração entre autoridades, meios de comunicação, instituições de ensino e pesquisa, empresas e produtores rurais.

REFERÊNCIAS

Artigos científicos

- Callaway, T.R.; Edrington, T.S.; Loneragan, G.H.; Carr, M.A.; Nisbet, D.J. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) ecology in cattle and management based options for reducing fecal shedding. **Agriculture Food and Analytical Bacteriology**, v.3, p.39-69, 2013.
- Callaway, T.R.; Edrington, T.S.; Loneragan, G.H.; Carr, M.A.; Nisbet, D.J. Current and near-market intervention strategies for reducing Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) shedding in cattle. **Agriculture Food and Analytical Bacteriology**, v.3, p.103-120, 2013.
- Duffy, G.; Burgess, C.M.; Bolton, D.J. A review of factors that affect transmission and survival of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in the European farm to fork beef chain. **Meat science**, v.97, n.3, p.375-383, 2014.
- Pointon, A.; Kiermeier, A.; Fegan, N. Review of the impact of pre-slaughter feed curfews of cattle, sheep and goats on food safety and carcass hygiene in Australia. **Food control**, v.26, n.2, p.313-321, 2012.
- Smith, D. R. Preharvest food safety challenges in beef and dairy production. **Microbiology Spectrum**, v.4, n.4, 2016.
- Wheeler, T.L.; Kalchayanand, N.; Bosilevac, J.M. Pre-and post-harvest interventions to reduce pathogen contamination in the US beef industry. **Meat Science**, v.98, n.3, p.372-382, 2014.
- Zhilyaev, S.; Cadavez, V.; Gonzales-Barron, U.; Phetxumphou, K.; Gallagher, D. Meta-analysis on the effect of interventions used in cattle processing plants to reduce *Escherichia coli* contamination. **Food research international**, v. 93, p. 16-25, 2017.

Livros

Devine, C.; Dikeman, M. **Encyclopedia of meat sciences**. Elsevier, 2014.

Collins, D.S.; Huey, R.J. **Gracey's meat hygiene**. John Wiley & Sons, 2015.

Kim, N.H.; Cho, T.J.; Rhee, M.S. Current Interventions for Controlling Pathogenic *Escherichia coli*. In: **Advances in applied microbiology**. Academic Press, 2017. p. 1-47.

Motarjemi, Y. **Encyclopedia of food safety**. Academic Press, 2013.

Ricke, S.C.; Atungulu, G.G.; Rainwater, C.; Park, S.H. **Food and feed safety systems and analysis**. Academic Press, 2018.

Ricke, S.; Donaldson, J.; Phillips, C. **Food Safety: Emerging Issues, Technologies and Systems**. Academic Press, 2015.

Robinson, R.K. **Encyclopedia of food microbiology**. Academic press, 2014.

Sperandio, V.; Hovde, C.J. **Enterohemorrhagic *Escherichia coli* and other Shiga toxin-producing *E. coli***. American Society for Microbiology (ASM), 2015.

Monografias

Guilherme Sicca Lopes Sampaio. Jejum pré-abate de bovinos confinados e as condições higiênico-sanitárias do abate. Tese de doutorado, 2017, Unesp, Botucatu, SP, Brasil.

Renata Leonardo Lomele. Avaliação microbiana e cor de carcaças *Bos indicus* tratadas com diferentes soluções de ácido láctico. Tese de doutorado, 2018, Unesp, Botucatu, SP Brasil.

Artigos técnicos

Sampaio, G.S.L. Considerações sobre o jejum pré-abate de bovinos. **CarneTec**, v.22, n.2, p.08-14, Abril-Junho 2015. Marketing & Technology Group Inc., Chicago, IL, EUA.

Sampaio, G.S.L. Estratégias pré-abate para redução de patógenos na carne bovina. **CarneTec**, v.24, n.2, p.12-16, Abril-Junho 2017. Marketing & Technology Group Inc., Chicago, IL, EUA.

Sampaio, G.S.L. Perspectivas para a redução de patógenos na carne bovina. **CarneTec**, v.xx, n.x, p.xx-xx, Abril-Junho 2018. Marketing & Technology Group Inc., Chicago, IL, EUA.

Websites – Austrália:

AMPC – Processing Hygiene, Quality and Meat Science. Disponível em: <<https://www.ampc.com.au/research/reports/processing-hygiene>>.

CSIRO – Meat Industry Services. Disponível em: <<http://www.meatupdate.csiro.au/>>.

Department of Agriculture and Water Resources – Exporting meat and meat products. Disponível em: <<http://www.agriculture.gov.au/export/controlled-goods/meat>>.

MLA – Food Safety. Disponível em: <<https://www.mla.com.au/research-and-development/food-safety/>>.

SAFEMEAT. Disponível em: <<http://safemeat.com.au/>>.

Websites – Brasil:

IBGE – Indicadores IBGE: Estatística da Produção Pecuária. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=72380>>.

MAPA – Publicações. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/arquivos-publicacoes-dipoa>>.

MAPA – Serviço de Inspeção Federal. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/sif/servico-de-inspecao-federal-sif>>.

Websites – Estados Unidos (EUA):

AMSA – American Meat Science Association. Disponível em: <<https://www.meatscience.org/publications-resources>>.

BIFSCo – Resources. Disponível em: <<http://www.BIFSCo.org/resources.aspx>>.

CDC – *Salmonella*. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>>.

CDC – *E. coli*. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/ecoli/index.html>>.

National Cattlemen's Beef Association – Beef Checkoff Program - Beef Safety Research. Disponível em: <<https://www.beefresearch.org/beefsafety.aspx>>.

USDA – Compliance Guides. Disponível em: <<https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/regulatory-compliance/compliance-guides-index>>.

USDA – National Institute of Food and Agriculture - The STEC CAP Grant. Disponível em: <<http://stecbeefsafety.org/>>.

USDA – Brazil: Livestock and Products Annual. Disponível em: <<https://www.fas.usda.gov/data/brazil-livestock-and-products-annual-4>>.

USDA – Livestock and Poultry: World Markets and Trade. Disponível em: <<https://www.fas.usda.gov/data/livestock-and-poultry-world-markets-and-trade>>.

USDA – ERS research - Cost Estimates of Foodborne Illnesses. Disponível em: <<https://www.ers.usda.gov/data-products/cost-estimates-of-foodborne-illnesses.aspx#48498>>.

Websites – Internacional:

FAO/WHO – Food safety & quality. Disponível em: <<http://www.fao.org/food/food-safety-quality/home-page/en/>>.

OIE – One Health. Disponível em: <<http://www.oie.int/en/for-the-media/onehealth/>>.

WHO – Food safety. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/en/>>.

Websites – União Europeia:

EUR-Lex. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/homepage.html?locale=pt>>.

EFSA – Science - Biological hazards. Disponível em: <<https://www.efsa.europa.eu/en/science/biological-hazards>>.

EFSA – Science - Decontamination substances. Disponível em: <<https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/decontamination-substances>>.

FSA – Food Standards Agency. Disponível em: <<https://www.food.gov.uk/>>.

ACMSF/FSA – ACM/1191. Disponível em:
<https://acmsf.food.gov.uk/sites/default/files/acm_1191_stec.pdf>.

RASFF - Food and Feed Safety Alerts. Disponível em: <
https://ec.europa.eu/food/safety/rasff_en>.

Teagasc – the Agriculture and Food Development Authority. Disponível em:
<<https://www.teagasc.ie/>>.

PROTEÔMICA E METABOLÔMICA DA QUALIDADE DA CARNE

Mario Luiz Chizzotti ^a, Rafael Torres de Souza Rodrigues ^b, Luiz Henrique Pereira Silva ^a, Mauricio Miguel Estrada ^a, Débora Evelyn de Freitas Assis ^a, Pedro Del Bianco Benedeti ^a

^a Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 36570-900, Brasil

^b Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, PE, 56300-990, Brasil

RESUMO

A qualidade da carne pode ser afetada por vários fatores, como variação individual, grupo genético, manejo nutricional e alimentar, classe sexual, idade/peso de abate, estresse pré-abate, estimulação elétrica da carcaça e maturação da carne. Estudos de proteômica, fosfoproteômica e metabolômica tem possibilitado a melhor compreensão (a nível molecular) de como estes fatores influenciam a qualidade da carne. O objetivo desta revisão foi mostrar resultados de estudos que utilizaram técnicas de proteômica e metabolômica para avaliar os principais fatores que afetam a qualidade da carne. Além disso, como a relação entre a maciez da carne e as proteínas de choque térmico é um tema muito controverso, esse assunto foi tratado separadamente. Apoptose, glicólise, proteólise e alterações em proteínas reguladoras dos miofilamentos têm sido destacados através de estudos proteômicos e fosfoproteômicos como os principais eventos moleculares por trás dos fatores que afetam a qualidade da carne. Diferenças relacionadas ao tipo de fibra, sabor, segurança e propriedades nutricionais também são aspectos relevantes que definem a qualidade da carne. Nesse contexto, abordagens metabolômicas baseadas em espectrometria de massa têm demonstrado correlações entre os aspectos relevantes da carne bovina com a percepção de qualidade pelo consumidor.

INTRODUÇÃO

A carne é uma das principais fontes de proteína animal consumida no mundo. No entanto, as expectativas dos consumidores em relação à qualidade da carne muitas vezes não são atendidas, constituindo um grande problema para a indústria. Dessa forma, a mesma busca entender os mecanismos relacionados à qualidade da carne, a fim de desenvolver estratégias, antes e depois do abate, para fornecer um produto de qualidade mais consistente (Troy et al., 2010; Hocquette et al., 2012; Picard et al., 2015).

Maciez, cor e marmoreio são os principais atributos de qualidade da carne considerados pelos consumidores durante a decisão de compra (Font-i-Furnols et al., 2014). Esses atributos podem ser afetados por diversos fatores, que podem ser classificados em pré e pós-abate. Os principais fatores pré-abate são: variação individual, grupo genético, manejo nutricional e alimentar, idade ao abate, classe sexual e estresse pré-abate. Estimulação elétrica da carcaça e maturação da carne podem ser considerados como os principais fatores pós-abate (Guerrero et al., 2013).

A proteômica é uma técnica de biologia molecular que estuda a abundância de proteínas e tem sido muito utilizada na ciência da carne para promover a melhor compreensão dos mecanismos ligados à qualidade da carne, pois as proteínas são os principais constituintes do tecido muscular e as alterações bioquímicas relacionadas à conversão de músculo em carne e alterações estruturais que ocorrem durante a maturação da carne são controladas por enzimas (D'Alessandro et al., 2013). Além disso, como a proteômica pode comparar a abundância de várias proteínas ao mesmo tempo, o uso dessa técnica tem possibilitado identificar novas proteínas ligadas à qualidade da carne, que não haviam sido previamente estudadas com métodos que utilizam proteínas alvos (Morzel et al., 2008). Outra vantagem do uso da proteômica é que, como as proteínas são os “produtos finais” dos genes, diferenças em sua abundância podem refletir diferenças na

expressão gênica (Gobert et al., 2014), o que pode permitir o desenvolvimento de marcadores gênicos.

As proteínas podem sofrer modificações pós-traducionais que podem mudar sua estrutura e função (Mann et al., 2003), e a fosforilação tem papel de destaque dentre essas modificações. Dessa forma, a fosfoproteômica é o ramo da proteômica que visa estudar as proteínas fosforiladas. Muitas das alterações metabólicas e estruturais que ocorrem durante a conversão do músculo em carne são reguladas pela fosforilação de proteínas (Huang et al., 2013). No entanto, outras modificações pós-traducionais (e.g. glicosilação, ubiquitinação, S-nitrosilação, metilação, N-acetilação, lipidação e proteólise) também podem afetar o desdobramento, conformação, distribuição, estabilidade e atividade das proteínas, o que aumenta exponencialmente a complexidade do proteoma.

Além da abundância proteica, a identificação de metabólitos diferenciais na carne bovina utilizando a abordagem metabolômica também tem enorme potencial para elucidar vias preferenciais e produtos finais relacionados à atividade biológica e características de qualidade da carne, como por exemplo o sabor. O termo metabolômica refere-se à identificação e quantificação de produtos metabólicos de moléculas pequenas (o metaboloma) de um tecido/órgão/célula, presentes em um momento específico, frequentemente usando técnicas como espectrometria de massa e espectroscopia de ressonância magnética nuclear. A maior parte do metaboloma resulta da atividade enzimática e, portanto, pode complementar o perfil proteômico na compreensão dos principais fatores de regulação. Dessa forma, a metabolômica é útil para o melhor entendimento do desenvolvimento de sabores desagradáveis em carnes, bem como para esclarecer os principais eventos que podem ter influência sobre características indesejáveis da carne.

O objetivo desta revisão foi mostrar resultados de estudos proteômicos e metabolômicos avaliando os principais fatores que afetam a qualidade da carne. Focamos nossa atenção nos

seguintes fatores: variação individual, grupo genético, manejo nutricional e alimentar, classe sexual, idade ao abate, estresse pré-abate, estimulação elétrica da carcaça e maturação da carne. Além disso, quando disponíveis, também foram apresentados resultados de estudos fosfoproteômicos avaliando esses fatores. Mais ainda, como a identificação de várias proteínas pertencentes à família das proteínas de choque térmico (HSPs), ligadas a diferenças na maciez da carne, tem sido uma das mais importantes contribuições da proteômica e fosfoproteômica para a ciência da carne, esta revisão iniciará abordando a relação entre as HSPs e a maciez da carne, que se trata ainda de uma questão muito controversa.

PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO E MACIEZ DA CARNE

Quando a apoptose dependente de caspase foi sugerida como um dos principais eventos responsáveis pela maciez da carne (Ouali et al., 2006), o estudo das HSPs tornou-se de grande interesse para a ciência da carne. As HSPs são membros de uma grande família de proteínas expressas em diferentes tecidos e localizadas em diversos compartimentos celulares e podem ser classificadas em 5 classes de acordo com seus pesos moleculares aproximados (kDa): HSP40 (DNAJ), HSP70 (HSPA), HSP90 (HSPC), HSP100 (HSPH) e pequenas HSPs (HSPB), que são formadas por proteínas que diferem em estrutura, localização, tipo de agente estressor e função (Kampinga et al., 2009). Por exemplo, dentro da família de HSP70, o membro 1A da família A de proteínas de choque térmico (Hsp70) está localizado no citoplasma e no núcleo, enquanto a proteína de estresse mitocondrial-70 está localizada na mitocôndria e a proteína 78 kDa no retículo endoplasmático (Kregel et al., 2002). Embora as HSPs tenham sido inicialmente associadas ao estresse térmico, elas não são afetadas exclusivamente por esse agente estressor (Kregel et al., 2002).

Pesquisas recentes têm encontrado ligações entre a maciez da carne e a abundância de HSPs (Carvalho et al., 2014; Guillemin et al., 2012; Kim et al., 2008). Devido à atividade de proteína chaperona ser altamente conservada entre as HSPs, muitos grupos

de pesquisa têm discutido o envolvimento das HSPs no processo de maciez da carne, sem considerar suas singularidades. Em geral, quando a associação entre a abundância de HSPs e a maciez da carne é positiva, tem se sugerido que as HSPs teriam a capacidade de impedir a formação de agregados proteicos imediatamente após o abate, o que facilitaria a atividade de enzimas proteolíticas durante a maturação (Morzel et al., 2008). Por outro lado, outros estudos reportaram correlação negativa entre a abundância de HSPs e a maciez da carne e, nesses casos, tem sido proposto que o efeito anti-apoptótico das HSPs poderia prevenir ou retardar o processo de amaciamento da carne por apoptose (Picard et al., 2010). Estas contradições sobre o efeito das HSPs na maciez da carne podem estar relacionadas às suas diferentes atividades, localizações dentro da célula e agentes estressores. Assim, tem sido recomendado que o papel das HSPs na maciez da carne deva ser avaliado considerando as singularidades dessas proteínas (Ouali et al., 2013).

Inicialmente, foi proposto que as HSPs afetariam a maciez da carne pelo seu papel anti-apoptótico, que tem como característica: 1) Formar complexos com caspases ativas (iniciadores e executores) impedindo sua atividade; 2) Causar proteção dos substratos da caspase, prevenindo ou retardando sua degradação; e 3) Restabelecimento de proteínas danificadas (Ouali et al., 2006). Posteriormente, outros mecanismos de como as HSPs poderiam afetar a maciez da carne foram elucidados. Por exemplo, foi relatado que $\alpha\beta$ -cristalina, que pertence à classe das pequenas HSPs e também é conhecida como proteína de choque térmico beta-5, pode ser um substrato alternativo para a μ -calpaína, prevenindo a degradação de proteínas estruturais, como titina e desmina (Lomiwes et al., 2014). Além disso, tem sido observado que os níveis de proteína de choque térmico beta-5 na fração sarcoplasmática apresentaram maior redução durante o processo de maturação da carne em músculos com o menor pH final, sugerindo que as HSPs poderiam migrar da fração sarcoplasmática para a fração miofibrilar durante a acidificação muscular para se

associar com miofilamentos, protegendo-os contra a desnaturação e proteólise mediada pela calpaína/caspases (Lomiwes et al., 2014; Pulford et al., 2009).

Curiosamente, tem sido relatado que sob condições de estresse agudo, como aquelas encontradas no músculo logo após o abate, devido à interrupção no suprimento de nutrientes e oxigênio e declínio do pH, as HSPs também poderiam desencadear a apoptose (D'Alessandro et al., 2012). Além disso, algumas HSPs são estimuladas pela privação de glicose e influxo de Ca^{2+} , como a proteína-78 kDa regulada pela glicose (GRP78) e a proteína de estresse mitocondrial-70 (Lièvremonet et al., 1997; Londono et al., 2012), condições que ocorrem no músculo após o abate. A proteína de estresse mitocondrial-70 é a principal HSP mitocondrial e faz parte do sistema de comunicação entre o retículo endoplasmático e a mitocôndria, que leva Ca^{2+} do primeiro para o último (Kaufman and Malhotra, 2014). O acúmulo de Ca^{2+} nas mitocôndrias pode causar despolarização da membrana mitocondrial e a liberação de fatores pró-apoptóticos, induzindo assim, a apoptose dependente de caspases. A proteína de estresse mitocondrial-70 também pode contribuir para a apoptose pela formação de complexos com calpaína mitocondrial e fatores pró-apoptóticos permitindo seu transporte para a mitocôndria, o que também pode induzir despolarização da membrana mitocondrial e a subsequente liberação de fatores pró-apoptóticos no citoplasma (Feng et al., 2005; Ozaki et al., 2011). Isso poderia explicar por que a abundância de proteína de estresse mitocondrial-70 teve correlação negativa com o pH em 3 horas e pH final no músculo de bovinos e correlação positiva com a calpaína (Gagaoua et al., 2015). Além disso, também poderia explicar porque o músculo classificado como carne tenra tinha maior abundância de proteína de estresse mitocondrial-70 (Guillemin et al., 2011; Picard et al., 2014).

Foi sugerido um modelo de comunicação entre o retículo endoplasmático e a mitocôndria, em que a GRP78 participa da manutenção das concentrações de Ca^{2+} no retículo

endoplasmático, enquanto a proteína de estresse mitocondrial-70 faz parte do sistema de comunicação que transporta o Ca^{2+} do retículo endoplasmático para a mitocôndria, o que promove apoptose (Kaufman et al., 2014). Um estudo recente gerou resultados que concordam com este modelo. Houve maior abundância de proteína de estresse mitocondrial-70 em Angus (*Bos taurus taurus*), enquanto houve aumento na abundância de GRP78 no músculo *longissimus* de bovinos Nelore (*Bos taurus indicus*), o que poderia sugerir uma maior suscetibilidade do músculo Angus à apoptose (Rodrigues et al., 2017). Estes resultados foram intrigantes, pois o sistema calpaína/calpastatina tem sido utilizado para explicar as diferenças na maciez da carne entre taurinos e zebuínos (Whipple et al., 1990). Desta forma, recentemente foi relatado que o sistema calpaína/calpastatina pode estar relacionado ao sistema de caspases (enzimas responsáveis pela apoptose), no qual caspases poderiam diminuir a atividade inibitória da calpastatina sobre a calpaína (Lana & Zolla, 2016). Assim, foi sugerido que a menor atividade da calpastatina (inibidor de calpaína) no músculo de taurinos poderia estar relacionada à sua maior susceptibilidade à apoptose, o que resultaria em menor inibição da atividade da calpaína e, conseqüentemente, tornaria a carne mais macia em taurinos do que em zebus (Rodrigues et al., 2017). Além disso, foi relatado que as proteínas de ligação ao cálcio, como a GRP78, retardariam o amaciamento da carne, diminuindo a quantidade de cálcio livre no citoplasma necessária para ativar a calpaína.

Modificações pós-traducionais, como a fosforilação, também poderiam afetar a atividade de pequenas HSPs e sua relação com a maciez da carne (Lomiwes et al., 2014). Tem sido observado que músculos classificados como carne dura têm apresentado maior fosforilação da proteína de choque térmico beta-1, que estaria associada à dissociação do seu estado oligomérico dentro de oligômeros e monômeros menores que seriam mais eficazes contra a apoptose (D'Alessandro et al., 2012). Por outro lado, o efeito de fosforilação de pequenas HSPs e sua relação com a maciez da

carne ainda é controverso e parece ser um processo mais complexo. Por outro lado, o efeito da fosforilação de pequenas HSPs e sua relação com a maciez da carne ainda é controverso e aparenta ser um processo mais complexo. Por exemplo, outro estudo recente relatou que a proteína de choque térmico beta-1 foi mais fosforilada no músculo classificado como carne macia, o que poderia estar relacionado à dissociação do complexo proteína de choque térmico beta-1 com a serina/treonina, desencadeando a apoptose (D'Alessandro et al. al., 2012). Além disso, foi observado que o nível de fosforilação da proteína de choque térmico beta-6 diminuiu durante a maturação da carne, o que indicaria uma redução no efeito inibitório sobre as caspases iniciadoras e executoras (Longo et al., 2015). No entanto, o nível de fosforilação da proteína de choque térmico beta-5 aumentou durante a maturação da carne, o que pode estar ligado ao progresso da apoptose.

VARIAÇÃO INDIVIDUAL

A variação individual é a diferença na qualidade da carne entre animais do mesmo grupo genético criados em condições idênticas de manejo. Esta peculiaridade é um dos principais fatores estudados pela proteômica, objetivando identificar diferenças nas proteínas abundantes ou modificações pós-transcricionais relacionadas à qualidade da carne. Um desses estudos comparou o perfil proteômico do músculo de uma raça de bovinos nativos da Coreia classificado em alta ou baixa qualidade de carne (escore de cor, maciez e gordura intramuscular) (Kim et al., 2008). O grupo de alta qualidade apresentou maior abundância de alfa-actina, o que estaria associado à diminuição da integridade do miofilamento e ao aumento da fragmentação miofibrilar, dado que a alfa-actina é o principal miofilamento fino da estrutura muscular. Em contraste, o grupo de baixa qualidade apresentou maior abundância da proteína-1 do complexo T e da proteína beta-1 de choque térmico, proteínas envolvidas no restabelecimento das proteínas desnaturadas e na proteção da integridade de estruturas

miofibrilares. Assim, foi proposto que o aumento destas proteínas poderia retardar o amaciamento da carne no grupo de baixa qualidade.

Resultados semelhantes foram observados em um estudo recente comparando o proteoma muscular do gado Xiangxi × Angus com alto ou baixo conteúdo de gordura intramuscular (Mao et al., 2016), no qual a abundância da proteína-1 do complexo T e a proteína beta-1 de choque térmico também foram maiores no músculo com baixo conteúdo de gordura intramuscular. Interessantemente, também foi identificado que o músculo com elevado teor de gordura intramuscular apresentou incremento das proteínas envolvidas no metabolismo oxidativo (complexo citocromo b-c1 subunidade-2, citocromo-c oxidase subunidade-4 isoforma-1 e citocromo-c oxidase subunidade-6C) e menor concentração de enzimas relacionadas ao metabolismo glicolítico (fosfoglicerato quinase-1 e triose-fosfato isomerase); o anterior, confirma que o tipo de fibra muscular (oxidativa vs. glicolítica) está relacionado ao conteúdo de gordura intramuscular, tópico que será discutido posteriormente.

Em outro estudo foi reportado maior concentração das proteínas externas e internas das membranas mitocondriais (proibitina, mitofilina, fator de alongamento Tu, canal aniônico dependente de voltagem das proteína-1 e proteína-2 e NADH-ubiquinona oxidorreductase) em músculo de bovinos Charolês que tinham carne macia comparado com aqueles que produziram carne dura, sendo proposto que esse resultado indicaria maior degradação da membrana mitocondrial no grupo de carne macia, o que poderia induzir à apoptose (Laville et al., 2009).

Estudos de proteômica também ajudaram a entender a variação individual na maciez da carne em gado zebu (Carvalho et al., 2014). O perfil proteico muscular de bovinos Nelore classificados em carne dura ou macia foi comparado. Entre os resultados podemos destacar diferenças na quantidade de proteínas de choque térmico e proteínas estruturais. O grupo produtor de carne macia teve maior abundância de proteínas de

choque térmico beta-1 (dois spots) em relação com o grupo de carne dura (um spot). No entanto, o grupo de carne dura apresentou maior expressão das proteínas de choque térmico 1A de 70 kDa e das proteínas estruturais e contráteis (cadeia leve miosina-1/3, cadeia leve reguladora da miosina-2 e cadeia alfa-1 da tropomiosina). Essas contradições entre concentração de proteínas de choque térmico e maciez da carne podem estar relacionadas as diferentes atividades destas proteínas e modificações pós-transcricionais do RNA, como já foi proposto anteriormente.

Além de ajudar a elucidar os mecanismos moleculares relacionados à variação individual da maciez e marmoreio, estudos proteômicos também melhoraram a compreensão dos fatores bioquímicos implícitos à variação individual na cor da carne. Tem sido relatado que o músculo de suínos Pietrain classificado como escuro apresentou maior abundância das proteínas envolvidas no metabolismo oxidativo (subunidade β da ATPase, succinato desidrogenase, NADH desidrogenase e hemoglobina) e menor abundância de enzimas glicolíticas (enolase-1, enolase-3 e glicerol 3-fosfato) do que os músculos classificados como claros (Sayd et al., 2006). No entanto, o músculo claro apresentou maior concentração de glutathione transferase ω , que é considerada a ativadora dos canais de liberação de cálcio RyR (receptor de rianodina) no músculo esquelético. Por outro lado, o músculo escuro apresentou maior concentração da proteína chaperona 58 kDa regulada pela glicose; esta proteína encontra-se no retículo sarcoplasmático e tem como função ajudar a reter o cálcio nessa organela. Este resultado é importante devido a liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático para o sarcoplasma ser um evento chave para a depleção de ATP e queda do pH muscular, que por sua vez causa desnaturação das proteínas e consequentemente alterações na cor da carne.

Em outro estudo comparando a variação individual na cor da carne, foi reportado que bifes com coloração estável apresentaram maior concentração de enzimas glicolíticas (fosfoglicomutase-1,

gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase e piruvato quinase-M2) e miofilamentos nas fibras de contração rápida (cadeia leve reguladora da miosina-2 e cadeia leve da miosina-1/3) do que bifes com menor estabilidade da cor. Este resultado poderia indicar um menor consumo de oxigênio nas células dos bifes de coloração estável, o que reduziria a auto-oxidação da mioglobina e, consequentemente, diminuiria o acúmulo de metamioglobina (Canto et al., 2015). Inesperadamente, os bifes instáveis apresentaram maior concentração da isoforma da mioglobina com o ponto isoelétrico mais baixo, o que pode estar relacionado a modificações pós-transcricionais, como a fosforilação.

Procurando um melhor entendimento, estudos combinando proteômica e fosfoproteômica forneceram novas evidências para ajudar a explicar o efeito da variação individual na qualidade da carne bovina. Assim, músculos de bovinos da raça Maremmana, identificados como carne macia, mostraram maior concentração de enzimas glicolíticas (alfa enolase-1, fosfoglicomutase-1 e triose-fosfato isomerase) e menor de enzimas fosforiladas (alfa enolase-1, triose-fosfato isomerase e gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase) em relação aqueles classificados como carne dura (D'Alessandro et al., 2012). Com base em dados metabólicos adicionais e na literatura, foi proposto que a fosforilação das enzimas glicolíticas poderia inibir sua atividade, o que atrasaria a queda do pH muscular nas carnes consideradas duras.

Em estudo similar, realizado pelo mesmo grupo (D'Alessandro et al., 2012), os músculos de bovinos da raça Chianina, identificados como carne dura mostraram maior fosforilação de actina em comparação com aqueles classificados como carne macia, o que pode estar relacionado à menor susceptibilidade à apoptose. Além disso, o grupo de carne dura expressou maior concentração de miofilamentos relacionados às fibra de contração rápida (cadeia leve de miosina-1 de contração rápida) e menor quantidade de miofilamentos de fibras de contração lenta (troponina-T lenta). Embora exista controversa, especialmente em bovinos, tem sido exposto que o tipo de fibra

muscular pode afetar a qualidade da carne devido a diferenças morfológicas e bioquímicas (Lefaucheur et al., 2010).

Nesse sentido, diferenças na fosforilação de enzimas glicolíticas e miofilamentos também foram reportadas em músculos de ovelhas classificados para maciez e dureza (Chen et al., 2016). A carne dura teve maior fosforilação das enzimas glicolíticas (glicogênio fosforilase, 6-fosfofrutoquinase, enolase, fosfoglicerato quinase, lactato desidrogenase-A e aldolase-A) e da cadeia leve da miosina-2. Foi sugerido que o aumento da fosforilação das enzimas glicolíticas poderia estar relacionado à sua baixa atividade, enquanto a fosforilação da cadeia leve da miosina-2 poderia ser um tipo de memória bioquímica que enriquece a força de contração muscular. Em adição, animais com carne dura apresentaram maior fosforilação da gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, enquanto aqueles com carne macia tiveram maior fosforilação da glicogênio fosforilase, o que estaria relacionado à menor atividade da primeira e maior da segunda enzima. Além disso, a carne dura mostrou maior fosforilação da miosina, o que aumentaria a interação desse filamento com moléculas adjacentes, resultando em carne com maior resistência ao corte.

Portanto, trabalhos anteriores indicam a importância da variabilidade entre indivíduos geneticamente similares em relação à qualidade da carne, sendo este fator uma das possíveis explicações dos resultados contraditórios encontrados em pesquisas que avaliam as características básicas da carne.

GENÓTIPO

O genótipo é um dos principais fatores que afetam as características da carcaça e os atributos de qualidade da carne, sendo que análises proteômicas têm contribuído para um melhor entendimento desse fator. Por exemplo, num estudo conduzido para avaliar o efeito do grupo genético em bovinos de diferente função: Friesian (leite), mestiço Romagnola × Podolian (carne) e Podolian (rústico), em relação ao padrão proteolítico da proteína miofibrilar (Marino et al., 2013); o gado Podolian mostrou menor

conteúdo de gordura intramuscular e carne mais dura aos 1 e 7 dias de maturação; no entanto, a mesma carne teve maior número spots nos géis 2D aos 21 dias de maturação. Este resultado pôde ser ocasionado pelo aumento da proteólise na carne maturada por mais tempo, verificado pelo incremento dos fragmentos da cadeia pesada da miosina, o que poderia explicar a semelhança na maciez da carne entre os três genótipos aos 14 e 21 dias de maturação. Além disso, a carne de Podolian teve maior quantidade de spots de troponina; sendo demonstrado que a degradação da troponina-T está relacionada ao amaciamento da carne durante a maturação (Cruzen et al., 2014).

Em outro estudo, foi comparado o perfil proteico muscular do gado japonês Wagyu preto (elevado marmoreio, maciez e sabor da carne) com o do gado holandês (Ohsaki et al., 2007). O músculo dos bovinos Holandês expressou maior quantidade da proteína Ankyrin-2, da cadeia leve de miosina-2 e da proteína OGN (mimecan). Este resultado indica que a maior quantidade da cadeia leve da miosina-2 poderia estar relacionada ao aumento na proporção de fibras de contração rápida, uma vez que ela é principalmente expressa neste tipo de fibras. Por sua vez, a expressão da proteína OGN estaria associada ao aumento do tecido conectivo, sendo que esta proteína teria um papel importante na fibrilogênese do colágeno, sendo expressa no tecido conjuntivo.

Em outro trabalho, também foram reportadas diferenças na quantidade de proteínas relacionadas ao tipo de fibra comparando grupos genéticos bovinos com diferente maturidade corporal e conteúdo de gordura intramuscular (Keady et al., 2013). Foi relatado que o músculo de bovinos da raça Belgian Blue (genótipo de maturação corporal tardia e elevada deposição de tecido muscular magro) exibiu maior quantidade da cadeia leve da miosina-1 de rápida contração e fosfoglicomutase-1 (enzima envolvida com o metabolismo de glicose) em relação com o músculo dos bovinos mestiços Angus (maturação corporal precoce e alto potencial de deposição de gordura intramuscular), o que poderia indicar maior proporção de fibras glicolíticas de contração

rápida e aumento do conteúdo de glicogênio no músculo de bovinos Belgian Blue. Entretanto, o músculo de mestiços Angus teve maior concentração das enzimas aconitase-2 e 2-oxoglutarato desidrogenase; sendo este resultado consistente com o maior conteúdo de gordura intramuscular nesses animais, uma vez que estas enzimas estão relacionadas à produção de NADPH, necessária para a síntese de ácidos graxos através da via das pentoses fosfato.

Semelhantemente, diferenças entre proteínas relacionadas com o tipo de fibra também foram observadas recentemente quando comparado o músculo de bovinos Nelore e Angus (Rodrigues et al., 2017). No estudo, o músculo de bovinos Angus apresentou maior concentração de miofilamentos oriundos de fibras de contração lenta (cadeia leve da miosina-3), enquanto o músculo de bovinos Nelore teve maior concentração de miofilamentos expressos em fibras de contração rápida (troponina-T e cadeia leve da miosina-1). Além disso, o músculo de Angus também mostrou elevada quantidade de proibitina, o que poderia estar relacionado ao maior conteúdo de gordura intramuscular comparado com o músculo de Nelore, uma vez que a proibitina tem sido proposta como estimuladora da adipogênese e lipogênese (Ande et al., 2014). Do mesmo modo, diferenças na concentração de fosfoproteínas também foram observadas entre grupos genéticos, sendo que a raça Angus apresentou maior fosforilação da actina-alfa-1, o que poderia ser um indicativo de resistência à apoptose, como discutido anteriormente. Sendo assim, diferenças na maciez da carne entre genótipos taurinos e zebuínos podem estar relacionadas à apoptose. Além disso, a mesma raça também teve maior fosforilação de troponina-T (Rodrigues et al., 2017), sendo está um dos substratos da enzima calpaína durante o amaciamento da carne. Este resultado foi interessante devido ao fato que a fosforilação de troponina-T foi sugerida como uma forma de aumentar sua suscetibilidade à calpaína (Di Lisa et al., 1995).

Igualmente, diferenças no nível de fosforilação das enzimas glicolíticas foram também observadas neste estudo (Rodrigues et

al., 2017), em que, bovinos Angus apresentaram maior fosforilação da fosfoglicomutase-1, enquanto bovinos Nelore tiveram maior fosforilação da triose fosfato isomerase, o que poderia estar relacionado a diferenças na velocidade de glicólise entre essas duas raças, pois a fosforilação da fosfoglucomutase-1 ocasiona aumento da sua atividade (Gururaj et al., 2004), enquanto a fosforilação da triose fosfato isomerase tem sido indicado como inibitória de sua atividade (Lee et al., 2010). Este resultado poderia estar relacionado com diferenças na queda do pH muscular após o abate e, em consequência, à ativação de enzimas proteolíticas, que afetam a maciez da carne (Lonergan et al., 2010).

No que se refere às diferenças entre grupos genéticos em suínos, abundância de enzimas glicolíticas (triose fosfato isomerase-1 e fosfoglicomutase-1) e de proteína de ligação a miosina-H (proteína reguladora do filamento grosso que é principalmente encontrada no músculo esquelético de contração rápida) foram maiores no músculo da raça Large White em relação à Meishan (raça com alto conteúdo de gordura intramuscular) (Xu et al., 2009). Contudo, o músculo dos suínos Meishan apresentou maior quantidade da cadeia β da ATPase (enzima envolvida no metabolismo energético mitocondrial) e da cadeia leve da miosina-1 de contração lenta nos músculos. Diante desses resultados, foi sugerido que animais selecionados para deposição de carne magra teriam maior proporção de fibras musculares de contração rápida e maior metabolismo glicolítico de energia, enquanto animais com maior conteúdo de gordura intramuscular apresentam, maior proporção de fibras de contração lenta e, sendo assim, elevado metabolismo oxidativo de energia.

Diante do exposto, é necessário reconsiderar os objetivos da seleção genética em relação à produção de carne de alta qualidade, sendo que na maioria dos casos, a seleção é realizada priorizando a produtividade.

CLASSE SEXUAL

A classe sexual é uma das maiores fontes de variação na qualidade da carne. A carne de novilhos é geralmente mais macia, mais gorda e menos escura que a carne de touros (Marti et al., 2013). Geralmente, o touro tem maior conteúdo de colágeno insolúvel no músculo que está relacionado à sua carne mais dura (Boccard et al., 1979). Apesar disso, existem poucos estudos de proteômica comparando músculo de machos inteiros e castrados. Em um desses estudos, os touros apresentaram maior abundância de proteína de cadeia leve da miosina-1, ankyrin repeat domain-containing protein-1 e proteína de choque térmico beta-1, e menor abundância de cofilina-2 do que novilhos (Zhang et al., 2012). Foi proposto que a maior abundância de ankyrin repeat domain-containing protein-1 and heat shock protein beta-1 em touros estaria relacionada a sua maior hipertrofia muscular, enquanto a maior abundância de cofilina-2 em novilhos seria negativamente relacionada com a hipertrofia devido a filamentos despolimerizados de actina. Esses resultados poderiam indicar que os touros teriam um menor turnover protéico muscular que os novilhos, o que poderia reduzir a maciez da carne.

Em um estudo recente comparando o proteoma e o fosfoproteoma de touros e novilhos, foi demonstrado que a castração tem um efeito marcante no tipo de fibra muscular (Silva, 2018). A castração aumentou a abundância de enzimas glicolíticas, enquanto que a fosforilação da proteína oxidativa ATP5B foi regulada negativamente. Além disso, abundância de isoformas rápidas de troponina T (TNNT3) foram aumentadas pela castração, enquanto a abundância de isoformas lentas (TNNT1) tendeu a diminuir ($P < 0,10$). Os bovinos castrados apresentaram maior proporção de miofilamentos de fibras glicolíticas de contração rápida e menor abundância de miofilamentos de fibras oxidativas de contração lenta do que os machos não castrados. A fibra glicolítica de contração rápida geralmente tem maior volume e área seccional do que fibras oxidativa de contração lenta, e um grande conteúdo de glicogênio, que é crucial para o declínio do pH *post*

mortem, que promove a liberação do incremento de cálcio para o sarcoplasma e ativa as calpaínas.

Outro estudo foi conduzido para comparar a abundância de 24 proteínas biomarcadoras da maciez da carne entre músculos de touros e novilhos por western blot (Guillemin et al., 2011). Como sugerido anteriormente, novilhos apresentam maior abundância de miosina de cadeia leve-1 de contração rápida, miosina de cadeia pesada IIx (isoforma expressa em fibras de contração rápida) e enzimas glicolíticas (enolase-1 e enolase-3). Além disso, os novilhos apresentaram maior abundância de m-calpaína e μ -calpaína. Associado a isso, diferenças na abundância da proteína do choque térmico também foram observadas. Touros apresentaram maior abundância de alfa cristalina de cadeia beta e de proteína de choque térmico beta-1, que são geralmente conhecidas pela inibição da apoptose. No entanto, novilhos apresentaram maior abundância da proteína do choque térmico da família A (Hsp 70) membro 8 e da proteína mitocondrial estresse-70. Intrigantemente, embora a proteína mitocondrial estresse-70 esteja associada com a proteção celular devido a sua atividade chaperona, ela também foi implicada no desencadeamento da apoptose. Portanto, as diferenças na maciez da carne entre touros e novilhos também podem estar relacionadas à apoptose.

NUTRIÇÃO E MANEJO ALIMENTAR

Embora o manejo nutricional e alimentar seja um fator determinante na qualidade de carne, existem poucos estudos que avaliaram seu efeito sobre as mudanças no proteoma muscular. Em um desses estudos, bovinos Japoneses criados previamente em confinamento com dieta concentrada foram terminados em pastagem ou mantidos em confinamento (Shibata et al., 2009). O músculo de bovinos alimentados com pastagem apresentaram maior abundância de miosina de cadeia leve de contração lenta e proteínas relacionadas ao metabolismo oxidativo (mioglobina e adenilato quinase-1). Por outro lado, o músculo de bovinos terminados em confinamento apresentou maior abundância de

enzimas glicolíticas (β -enolase-3, frutose-1,6-bisfosfato aldolase-A e triosefosfato isomerase). Foi sugerido que esses resultados poderiam indicar uma conversão do tipo de fibra muscular associada a alterações metabólicas quando os animais passaram do confinamento para o pasto. Embora as características de qualidade da carne não tenham sido avaliadas, este resultado foi interessante, pois o tipo de fibra muscular (contração lenta ou rápida) e o metabolismo energético predominante (glicolítico e oxidativo) estão relacionados à qualidade de carne (Choi et al., 2009).

Em outro estudo, o efeito do crescimento compensatório na abundância de proteína no músculo de suíno em 0 e 48 horas após abate foi avaliada (Lametsch et al., 2006). Os animais que tiveram crescimento compensatório foram restringidos à ração (60% de ingestão *ad libitum*) de 28 a 80 dias de confinamento, quando foram abatidos. Dois membros da família de proteínas de choque térmico (proteína cognata de choque térmico de 70 KDa e proteína de choque térmico beta-1) foram mais abundantes em músculo de suínos que apresentaram crescimento compensatório. Como essas proteínas regulam o destino das proteínas danificadas e participam da estabilização dos miofilamentos, foi proposto que esse resultado estaria ligado a maior turnover de proteína muscular em resposta ao crescimento compensatório. Além disso, suínos apresentando crescimento compensatório apresentaram maior abundância da proteína sulfito oxidase mitocondrial e de duas proteínas nucleares (elongina-B e canal intracelular de cloro 1) 48 horas após o abate, o que poderia estar relacionado ao maior número de mitocôndrias e células satélites e/ou menor estabilidade das membranas mitocondrial e nuclear em resposta ao crescimento compensatório. Assim sugeriu-se que o maior turnover protéico muscular estaria associado à maior maciez da carne em suínos com crescimento compensatório.

Além disso, o efeito da dieta rica em gordura (10 % de banha suplementada) na qualidade da carne e alterações no proteoma muscular tem sido relatado em suínos (Liu et al., 2014). Suínos

suplementados com alto teor de gordura tiveram maior conteúdo de gordura intramuscular do que o grupo controle. Curiosamente, os suínos alimentados com alto teor de gordura apresentaram menor abundância de miofilamentos (cadeia pesada da miosina, troponina T de músculo esquelético rápido e tropomiosina) e maior abundância de enzimas do metabolismo energético (fosfoglucomutase-1 e adenilato quinase-1) e de proteínas de resposta ao estresse e relacionadas a apoptose (proteína de choque térmico, relacionada com α -cristalina, B-6, calreticulina, proteína de reparação de excisão e calmodulina). Portanto, sugeriu-se que a dieta rica em gordura poderia modificar a estrutura muscular, o metabolismo energético e a resposta ao estresse e a apoptose, o que poderia afetar a qualidade da carne.

Mais recentemente, foi demonstrado que a suplementação de suínos com 1% de L- arginina proporcionou maior conteúdo de gordura intramuscular (aproximadamente 32%) em comparação com o grupo controle (Ma et al., 2014). Além disso, o músculo de suíno suplementado com L-arginina apresentou maior abundância de troponina-1 esquelética de contração lenta e menor abundância de miosina de cadeia pesada-2b (isoforma de contração rápida) e enzimas relacionadas à glicose (glicogênio fosforilase, fosfoglicerato quinase-1 e subunidade beta da enolase músculo específica). Assim, o maior conteúdo de gordura intramuscular nos animais suplementados estaria associado a uma maior proporção de fibras oxidativas de contração lenta. Tem sido sugerido que o conteúdo de gordura intramuscular está positivamente relacionado à proporção de fibras musculares oxidativas.

Estudos proteômicos também foram realizados para explicar os mecanismos moleculares envolvidos no efeito positivo da restrição dietética protéica sobre o conteúdo da gordura intramuscular. Suínos alimentados com dieta contendo baixo teor de proteína (13 ou 16%) tiveram maior conteúdo de gordura intramuscular e menor abundância muscular de enzimas glicolíticas (β -enolase, gliceraldeído-3-P desidrogenase, lactato desidrogenase-A, ATP-dependente 6-fosfofrutoquinase, fosfoglucomutase-1,

fosfogliceraldeído mutase e piruvato quinase) e isoformas rápidas de miosina de cadeia pesada, indicando que a restrição dietética protéica pode aumentar o conteúdo de gordura intramuscular ao mudar as propriedades metabólicas das fibras musculares de glicolítica para oxidativas (Pires et al., 2016).

IDADE DE ABATE

A idade ao abate pode ser considerada um dos principais fatores de manejo que afetam a qualidade da carne, pois os animais abatidos em estágio avançado geralmente apresentam carne mais resistente, principalmente devido ao aumento do teor de colágeno insolúvel (Purslow et al., 2012). Recentemente, mudanças no perfil protéico muscular relacionadas à qualidade da carne em resposta à idade de abate foram avaliadas (Silva, 2018), e apesar de diferenças nas proteínas estruturais miosina reguladora de cadeia leve 2 e alfa actina 1, as proteínas mais diferencialmente expressas relacionadas à maturidade foram associadas ao metabolismo energético, incluindo metabolismo de glicogênio, glicólise, fosforilação oxidativa, metabolismo de creatina-fosfato, e metabolismo NADH citosólico. Esses resultados sugerem que, com o avanço da maturidade e o decréscimo da taxa de crescimento muscular, ocorre uma redução na geração de ATP mitocondrial. À medida que o peso corporal do bovino aumenta os mecanismos energéticos, como as subunidades de fosforilação oxidativa, a creatina quinase e as enzimas glicolíticas, são regulados negativamente, indicando uma mudança para o metabolismo glicolítico. O aumento consistente de enzimas glicolíticas com o avanço da maturidade sugere que a hipertrofia muscular diminui o oxigênio favorecendo o metabolismo anaeróbico/glicolítico dependente do músculo esquelético.

Em outro estudo, bovinos da raça charolês abatidos aos 18 meses apresentaram maior abundância de enzimas alfa-actina e enzimas glicolíticas (alfa-enolase e triosefosfato isomerase), em comparação aos abatidos aos 14,5 meses. No entanto, os animais abatidos aos 14,5 meses apresentaram maior abundância de

proteína beta-1 (Gulyás et al., 2015). Segundo os autores, esses resultados poderiam indicar um aumento da atividade glicolítica no músculo dos bovinos mais velhos. Além disso, a maior abundância da actina no músculo dos bovinos mais velhos poderia ser relacionada ao incremento no tamanho da fibra muscular, que por sua vez poderia afetar a maciez da carne. Em adição a isso, sugeriu-se que a maior abundância da proteína de choque térmico beta-1 no músculo de bovinos jovens poderia ser positivamente associada com a maciez da carne.

Outra pesquisa foi conduzida com suínos abatidos aos 6, 9 ou 12 meses (Hollung et al., 2009). Músculos de suínos mais velhos tinham maior abundância de enzimas glicolíticas (enolase-3 e triosefosfato isomerase-1). No entanto, suínos mais velhos apresentaram menor abundância de actina, que indicaria menor degradação miofibrilar.

ESTRESSE PRÉ-ABATE

Estresse pré-abate é um dos principais contribuintes para a redução da qualidade da carne. A conversão de músculo em carne envolve muitas mudanças físicas e químicas que podem ser influenciadas pelo estágio fisiológico do animal antes do abate. Em bovinos, o estresse pré-abate está relacionado principalmente à depleção do estoque de glicogênio muscular levando ao alto pH final da carne (> 5.9) e consequente produção da carne seca, firme e escura (DFD – dark, firm and dry). Em suínos e aves, o estresse pré-abate está principalmente ligado a uma glicólise acelerada imediatamente após o abate que leva a uma rápida diminuição no pH da carne, resultando na produção da carne PSE (pale, soft and exudative) pálida, macia e exsudativa (Adzitey et al., 2011). Estudos proteômicos e fosfoproteômicos permitiram um melhor entendimento do efeito do estresse pré-abate sobre a qualidade da carne. A carne bovina DFD apresentou menor abundância da miosina de cadeia leve-3, miosina de cadeia leve-6B, miosina reguladora de cadeia leve -2 e troponina C tipo-2 do que a carne bovina normal (Franco et al., 2015). O nível de fosforilação da

miosina reguladora de cadeia leve-2 foi maior na carne DFD do que a carne normal, e foi hipotetizado que o pH mais alto na carne DFD poderia inibir a atividade da fosfatase ácida, responsável pela desfosforilação da cadeia leve reguladora da miosina-2. Tem sido relatado que a fosforilação da cadeia leve reguladora da miosina-2 pode aumentar a força da contração muscular (Ryder et al., 2007), o que poderia afetar negativamente a maciez da carne. Em outro estudo, o proteoma muscular de suínos submetidos a diferentes manejos pré-abate foi comparado (não misturados na fazenda, durante o transporte e na sala de espera; misturados na fazenda e não misturados durante o transporte e na sala de espera; e misturados na fazenda, durante o transporte e na sala de espera). Os autores observaram que os animais submetidos ao estresse pré-abate apresentaram maior abundância da proteína de choque térmico 70kDa-1B e menor abundância de adenilato cinase-1, o que pode indicar maior resposta anti-apoptótica em suínos estressados pré-abate (Oliván et al., 2016).

ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA DA CARCAÇA

A estimulação elétrica da carcaça tem sido associada para melhoria na qualidade da carne, promovendo uma queda mais rápida do pH do músculo, devido ao aumento da taxa de glicólise, que acelera o rigor mortis e previne o encurtamento pelo frio. Além disso, a estimulação elétrica também poderia melhorar a maciez da carne, estimulando a quebra de miofilamentos e proteínas estruturais (Hwang et al., 2003). A proteômica e fosfoproteômica permitiram uma compreensão mais profunda de como a estimulação elétrica melhora a qualidade da carne bovina. Tem sido demonstrado que o músculo eletricamente estimulado apresenta menor abundância de enzimas relacionadas ao metabolismo energético (α -enolase e creatina quinase M) do que o músculo não estimulado, o que pode estar relacionado à maior glicólise e metabolismo energético devido à estimulação elétrica, resultando na degradação destas enzimas (Bjarnadóttir et al., 2011). Além disso, o músculo eletricamente estimulado apresenta

menor abundância de miofilamentos e proteínas estruturais (troponina-T isoforma rápida, actina e desmina), o que poderia estar associado à fragmentação miofibrilar e amaciamento da carne. Entretanto, o músculo estimulado eletricamente apresentou maior abundância das proteínas de choque térmico (família de proteínas de choque térmico B-6, cadeia α -cristalina B e proteína de choque térmico beta-1) 1 hora após a estimulação, indicando uma maior resposta ao stress após a estimulação elétrica, confirmando a hipótese de que a proteólise post-mortem é aumentada em carne bovina eletricamente estimulada.

Resultado semelhante foi obtido em outro estudo (Shen et al., 2012), em que a carne bovina eletricamente estimulada apresentou menor abundância das proteínas pertencente ao aparato contrátil, proteína de ligação à miosina H e enzimas do metabolismo energético (triosefosfato isomerase e creatina quinase tipo M), sugerindo maior proteólise e metabolismo energético muscular em resposta à estimulação elétrica.

Em um estudo mais recente, também foi relatado redução na abundância de enzimas glicolíticas (gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, frutose-bifosfato aldolase A, fosfoglicerato quinase-1 e piruvato quinase isoenzima M1) em carne bovina eletricamente estimulada, indicando maior glicólise devido à estimulação elétrica (Kim et al., 2013). Curiosamente, também foi observado que a abundância de Anexina A5 aumentou em carne bovina eletricamente estimulada. Como a Anexina A5 está associada à membrana do retículo sarcoplasmático e está envolvida na regulação do fluxo de cálcio, sugeriu-se que sua maior abundância na carne bovina eletricamente estimulada poderia estar associada ao sistema da calpaína e à ativação da proteólise dependente do cálcio.

A estimulação elétrica da carcaça pode afetar o metabolismo energético do músculo post-mortem promovendo alterações pós-traducionais em enzimas como a fosforilação. O músculo bovino eletricamente estimulado apresentou menor fosforilação das enzimas envolvidas no metabolismo energético e glicólise (cadeia

de creatina quinase M, frutose-bifosfato aldolase C-A, β -enolase e piruvato quinase) do que o músculo não estimulado (Li et al., 2012). Foi hipotetizado que a estimulação elétrica estimularia a desfosforilação dessas enzimas, aumentando sua atividade e promovendo uma depleção mais rápida de ATP e declínio do pH muscular.

MATURAÇÃO DA CARNE

O processo de maturação da carne resulta em degradação dos miofilamentos e das proteínas estruturais pela ação das proteases endógenas como calpaína, catepsinas, caspases e proteassomos (Kemp et al., 2010). A proteômica e a fosfoproteômica tem sido usadas não somente para confirmar os já conhecidos mecanismos responsáveis pelo amaciamento da carne durante a maturação, mas também identificar novas proteínas e mecanismos envolvidos neste processo. Por exemplo, foi relatado que a abundância de fragmentos de actina e miosina de cadeia pesada foram aumentados na carne suína maturada, indicando sua degradação durante a maturação (Lametsch et al., 2003). A abundância de actina, miosina de cadeia leve -1, troponina-T isoforma lenta e desmina diminuiu na carne maturada, indicando ruptura da estrutura do sarcômero durante o processo de maturação (Hwang et al., 2005).

Além disso, carne bovina maturada apresenta maior abundância de proteínas pertencentes a estrutura celular, como proteínas de membranas ou do sistema de ancoragem do citoesqueleto (proteína-1 do canal aniônico seletivo voltagem-dependente, vinculina e fragmentos de anexina), sugerindo uma degradação das estruturas celulares durante a maturação da carne e liberação de seus constituintes proteicos, tornando-os mais extraíveis (Laville et al., 2009). Em outro estudo, a abundância de troponina T e fragmentos de miosina aumentou, enquanto a abundância de troponina T intacta diminuiu durante a maturação da carne bovina, indicando proteólise e ruptura de miofilamentos (Polati et al., 2012). Mais recentemente, foi relatado que o número

de spots de proteínas (troponina T rápida, troponina I e fragmentos de miosina de cadeia pesada-1) aumentou durante a maturação da carne, como resultado da degradação das miofibrilas (Marino et al., 2013).

Além disso, a proteômica tem sido útil para fornecer uma compreensão mais profunda da proteólise post-mortem. Uma correlação positiva foi observada entre a abundância de proteína de choque térmico-27 em músculo fresco e a maciez da carne bovina (Morzel et al., 2008). Além disso, a abundância de fragmentos de actina aumentou na carne bovina maturada e os maiores e menores fragmentos de actina foram positivamente correlacionados com a abundância de proteína de choque térmico-27 no músculo fresco. Considerando essas descobertas e considerando o papel central da proteína de choque térmico-27 na organização e manutenção da integridade do filamento de actina, foi proposto que uma maior abundância de proteína de choque térmico-27 no músculo imediatamente após o abate poderia impedir a agregação proteica, o que facilitaria a ação das enzimas proteolíticas durante a maturação da carne bovina. Além disso, também foi relatado que a abundância da proteína capping diminuiu em carne bovina maturada (Bjarnadóttir et al., 2010). Como a proteína capping desempenha um papel fundamental no controle da polimerização da actina e da uniformidade dos comprimentos de filamentos finos interagindo com a actina e outras proteínas associadas à linha Z, foi proposto que a degradação da proteína capping seria necessária para a subsequente degradação da actina durante o processo de maturação da carne.

Os conhecimentos dos mecanismos moleculares responsáveis pelo amaciamento da carne durante a maturação foram aprofundados através da abordagem da fosfoproteômica. Um estudo recente destacou o papel da apoptose durante a maturação da carne bovina (Canto et al., 2015). Observou-se que a abundância de proteína de choque térmico-B6 diminuiu em carne bovina maturada. Como a proteína de choque térmico-B6 fosforilada também foi identificada por Western blotting e

confirmada por espectrometria de massa, foi sugerido que a diminuição na sua abundância, durante a maturação, poderia promover a apoptose, porque a fosforilação da proteína de choque térmico aumenta o seu papel anti-apoptótico. Além disso, também foi relatado que a abundância de dois spots de $\alpha\beta$ -cristalina com o ponto isoelétrico mais baixo (provavelmente mais fosforilados) aumentou, enquanto a abundância de outros dois spots de $\alpha\beta$ -cristalina com o ponto isoelétrico mais alto (provavelmente menos fosforilados) diminuiu na carne maturada. Como a $\alpha\beta$ -cristalina fosforilada também foi identificada por Western blotting e confirmada por espectrometria de massa, foi proposto que um aumento no seu nível de fosforilação promoveria a apoptose durante a maturação da carne bovina.

A fosforilação de miofilamentos também foi relatada como importante para o amaciamento da carne. Por exemplo, foi observado que a miosina de cadeia leve -2 duplicou seus sítios fosforilados de 0 a 24 horas após o abate, sem grandes alterações após 14 dias de maturação, sugerindo que a fosforilação da cadeia leve da miosina-2 desempenharia um papel importante no encurtamento do sarcômero, porque sua fosforilação pode aumentar a força de contração muscular e mantê-la por mais tempo (Muroya et al., 2007a).

Além disso, outro estudo mostrou que as isoformas de troponina T fosforilada foram detectadas em géis 2-DE de músculo bovino coletado em 1 h após o abate e carne bovina maturada por 1 dia, mas nenhum polipeptídeo relacionado à troponina T foi detectado após 14 dias (Muroya et al., 2007b). Assim, sugeriu-se que essa alteração na fosforilação da troponina T poderia ser devida à desfosforilação enzimática ou a degradação dos sítios fosforilados. Segundo os autores, esperava-se que os locais de fosforilação da troponina T fossem encontrados na região N-terminal. Como os fragmentos de troponina T degradados não possuíam regiões N-terminais e sítios fosforilados, o ponto de corte da região N-terminal por proteólise seria mais provável para explicar a falta de fragmentos de troponina T fosforilada em géis 2-

DE de carne bovina maturada por 14 dias. Tem sido proposto que a fosforilação da troponina T aumenta a sua suscetibilidade a calpaína devido a uma alteração conformacional que causa uma dissociação do complexo troponinas (Di Lisa et al., 1995).

Na carne bovina de Nelore, a proteômica da maturação revelou que a creatina quinase do tipo M foi marcadamente fragmentada no período post-mortem, indicando um potencial marcador biológico para estimar os dias de maturação da carne bovina (Silva, 2018). Neste estudo foi relatado também que a abundância de PGM1 fosforilada aumentou nas primeiras 24 horas post-mortem e foi altamente correlacionada com o pH da carcaça. Além disso, a abundância das proteínas miofibrilares fosforiladas ACTA1 e MYLPF se correlacionaram positivamente com o comprimento do sarcômero, mostrando potenciais marcadores para a conversão de músculo em carne (Silva, 2018).

METABOLÔMICA DA CARNE

Além da proteômica, outra ferramenta interessante para explicar as diferenças na qualidade da carne bovina é a metabolômica, que pode ser mais útil na identificação de metabólitos relacionados ao sabor. O sabor da carne está relacionado a uma mistura de compostos liberados ou transformados durante a conversão de músculo em carne (Meinert et al., 2009), e essas transformações aumentam durante a maturação, causando intensificação de sabor (Khan et al., 2015). González et al. (2007) verificaram que 7 dias de maturação aumentaram a aceitabilidade da carne bovina, mas 14 dias ou 28 dias diminuíram, o que pode estar relacionado aos metabólitos formados durante a maturação. A maturação à seco ou úmida são amplamente aplicadas para melhorar o sabor e a textura da carne. Comparando estes dois processos de maturação, os participantes do painel determinaram maior intensidade de “off flavor” na carne da maturação úmida do que a maturada à seco (Obuz et al., 2014).

O perfil metabólico da carne maturada à seco ou úmido de vacas de descarte foi avaliado e foram detectadas diferenças em

25 metabólitos (Estrada et al., no prelo). Quatro metabólitos apresentaram maior concentração na carne bovina in natura/não maturada (Glicose, Glucose-6-fosfato, IMP e D-Ribulose-5-fosfato); enquanto quatro diferiram entre os processos de maturação, e o ácido melânico, a metionina e a putrescina foram mais abundantes na maturação úmida e a sacaropina foi mais abundante na carne maturada à seco. A putrescina é uma amina biogênica produzida pela descarboxilação de aminoácidos livres e pode estar relacionada ao sabor desagradável da carne após o processo de maturação devido às atividades microbianas, que foram afetadas pelo processo de maturação.

Kodani et al. (2017) utilizaram a metabolômica para prever atributos composicionais da carne bovina, como a proporção total de ácidos graxos insaturados, ponto de fusão, e descobriu que leucina e creatina eram biomarcadores potenciais, positiva e negativamente correlacionados com a duração do processo de maturação, respectivamente.

A metabolômica da carne bovina também é muito útil para detecção de adulteração de carnes processadas, já que a mistura com outras carnes mais baratas em produtos processados causará uma alteração proeminente no perfil de ácidos graxos (ou lipidômica), que podem ser identificados através da metabolômica usando GC-MS. Lipidômica também pode ser aplicado para identificar o local de origem do animal (Trivedi et al., 2016).

CONCLUSÕES

A qualidade da carne pode ser afetada por vários fatores. Estudos proteômicos e metabolômicos veem fornecendo uma compreensão mais ampla e profunda de como esses fatores poderiam contribuir para essas variações. Estas abordagens têm confirmado conceitos previamente propostos e fornecido novos insights sobre outros mecanismos envolvidos na qualidade da carne. Por exemplo, diferenças em miofilamentos expressos em fibras de contração rápida ou lenta podem estar relacionadas a variações entre animais, grupos genéticos, castração e nutrição.

Além disso, a degradação de miofilamentos e proteínas estruturais mostraram que a proteólise de actina e miosina pode ser tão importante para amaciamento da carne quanto a degradação de troponina T e desmina. A identificação de proteínas de choque térmico relacionadas à maciez da carne tem sido uma das maiores contribuições da proteômica para a Ciência da Carne, revelando o papel da apoptose na amaciamento da carne. Estudos fosfoproteômicos têm demonstrado que os efeitos pós-traducionais da variação individual, grupo genético e do estresse pré-abate que afetam a qualidade da carne estão relacionados as diferenças na fosforilação de miofilamentos e enzimas glicolíticas, indicando que esta importante modificação pós-traducional das proteínas está relacionada à sua atividade enzimática ou sua susceptibilidade a proteases. Além disso, a metabolômica tem potencial para avaliar múltiplas características qualitativas da carne, como composição e sabor da carne, a fim de melhorar a qualidade da carne.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Ciência da Carne (LCC) e ao Laboratório de Biotecnologia Animal (LABTEC) da Universidade Federal de Viçosa pelo apoio durante as análises, extração e quantificação de proteínas. Agradecemos também ao Núcleo de Análise de Biomoléculas (NUBIOMOL) da Universidade Federal de Viçosa pelo fornecimento de instalações e suporte técnico ao longo da análise do proteoma, e a Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG, Grant # APQ-02577-14), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Bolsas 459912 / 2014-3 307241 / 2013-0 e INCT-CA) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Estágio Sênior # 88881.119281 / 2016-01).

REFERÊNCIAS

- Adzitey F and Nurul H, Pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) meats: causes and measures to reduce these incidences-a mini review. *Int Food Res J* 18:11–20 (2011).
- Ande SR, Nguyen KH, Padilla-Meier GP, Wahida W, Nyomba BLG and Mishra S, Prohibitin overexpression in adipocytes induces mitochondrial biogenesis, leads to obesity development, and affects glucose homeostasis in a sex-specific manner, *Diabetes* 63:3734–3741 (2014).
- Bjarnadóttir SG, Hollung K, Færgestad EM and Veiseth-Kent E, Proteome changes in bovine longissimus thoracis muscle during the first 48 h postmortem: shifts in energy status and myofibrillar stability. *J Agric Food Chem* 58:7408–7414 (2010).
- Bjarnadóttir SG, Hollung K, Høy M and Veiseth-Kent E, Proteome changes in the insoluble protein fraction of bovine Longissimus dorsi muscle as a result of low-voltage electrical stimulation. *Meat Sci* 89:143–149 (2011).
- Boccard RL, Naude RT, Cronje DE, Smit MC, Venter HJ and Rossouw EJ, The influence of age, sex and breed of cattle on their muscle characteristics. *Meat Sci* 3:261–280 (1979).
- Canto AC, Suman SP, Nair MN, Li S, Rentfrow G, Beach CM, Silva TJP, Wheeler TL, Shackelford SD, Grayson A, McKeith RO, King DA, Differential abundance of sarcoplasmic proteome explains animal effect on beef Longissimus lumborum color stability. *Meat Sci* 102:90–98 (2015).
- Carvalho ME, Gasparin G, Poleti MD, Rosa AF, Balieiro JCC, Labate CA, Nassu RT, Tullio RR, Regitano LCA, Mourão GB and Coutinho LL, Heat shock and structural proteins associated with meat tenderness in Nellore beef cattle, a *Bos indicus* breed. *Meat Sci* 96:1318–1324 (2014).
- Chen L, Li X, Ni N, Liu Y, Chen L, Wang Z, Shen QW and Zhang D, Phosphorylation of myofibrillar proteins in post-mortem ovine muscle with different tenderness. *J Sci Food Agric* 96:1474–1483 (2016).
- Choi YM and Kim BC, Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality. *Livest Sci* 122:105–118 (2009).
- Cruzen SM, Paulino PV, Lonergan SM and Huff-Lonergan E, Postmortem proteolysis in three muscles from growing and mature beef cattle. *Meat Sci* 96:854–861 (2014).

- D'Alessandro A and Zolla L, Meat science: From proteomics to integrated omics towards system biology. *J Proteomics* 78:558–577 (2013).
- D'Alessandro A, Marrocco C, Rinalducci S, Mirasole C, Failla S and Zolla L, Chianina beef tenderness investigated through integrated Omics. *J Proteomics* 75:4381–4398 (2012).
- D'Alessandro A, Rinalducci S, Marrocco C, Zolla V, Napolitano F and Zolla L. Love me tender: an Omics window on the bovine meat tenderness network. *J Proteomics* 75:4360–4380 (2012).
- Di Lisa F, De Tullio R, Salamino F, Barbato R, Melloni E, Siliprandi N, Schiaffino S and Pontremoli S, Specific degradation of troponin T and I by μ -calpain and its modulation by substrate phosphorylation. *Biochem J* 308:57–61 (1995).
- Feng Y, Ariza ME, Goulet AC, Shi J and Nelson MA, Death-signal-induced relocalization of cyclin-dependent kinase 11 to mitochondria. *Biochem J* 392:65–73 (2005).
- Font-i-Furnols M and Guerrero L, Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. *Meat Sci* 98:361–371 (2014).
- Franco D, Mato A, Salgado FJ, López-Pedrouso M, Carrera M, Bravo S, Parrado M, Gallardo JM and Zapata C, Tackling proteome changes in the longissimus thoracis bovine muscle in response to pre slaughter stress. *J Proteomics* 122:73–85 (2015).
- Gagaoua M, Terlouw EC, Boudjellal A and Picard B, Coherent correlation networks among protein biomarkers of beef tenderness: what they reveal. *J Proteomics* 128:365–374 (2015).
- Gagaoua M, Terlouw EC, Micol D, Boudjellal A, Hocquette JF and Picard B, Understanding early post-mortem biochemical processes underlying meat color and pH decline in the Longissimus thoracis muscle of young blond d'Aquitaine bulls using protein biomarkers. *J Agric Food Chem* 63:6799–6809 (2015).
- Geesink GH, Kuchay S, Chishti AH and Koohmaraie M, μ -Calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins. *J Anim Sci* 84:2834–2840 (2006).
- González, R. A., López, V. J., De Moreno, L. A., Leidenz, H. N., Leal, M., & Pirela, M. F. (2007). Efecto de la suplementación y maduración de carnes al vacío sobre la palatabilidad del longissimus de novillos criollo limonero cebados a pastoreo. *Revista Científica*, XVII(3), 280–287 (2015).

- Guerrero A, Valero MV, Campo MM and Sañudo C, Some factors that affect ruminant meat quality: from the farm to the fork. Review. *Acta Sci Anim Sci* 35:335–347 (2013).
- Guillemin N, Bonnet M, Jurie C and Picard B, Functional analysis of beef tenderness. *J Proteomics* 75:352–365 (2011).
- Guillemin N, Jurie C, Cassar-Malek I, Hocquette JF, Renand G and Picard B. Variations in the abundance of 24 protein biomarkers of beef tenderness according to muscle and animal type. *Animal* 5:885–894 (2011).
- Guillemin NP, Jurie C, Renand G, Hocquette JF, Micol D, Lepetit J and Picard B, Different phenotypic and proteomic markers explain variability of beef tenderness across muscles. *Int J Biol* 4:26–38 (2012).
- Gulyás G, Czeglédi L, Béri B, Harangi S, Csősz E, Szabó Z, Janáky Y and Jávorski A, Proteomic analysis of skeletal muscle at different live weights in Charolais bulls. *Acta Aliment* 44:132–138 (2015).
- Gururaj A, Barnes CJ, Vadlamudi RK and Kumar R, Regulation of phosphoglucosyltransferase 1 phosphorylation and activity by a signaling kinase. *Oncogene* 23:8118–8127 (2004).
- Hocquette JF, Botreau R, Picard B, Jacquet A, Pethick DW and Scollan ND, Opportunities for predicting and manipulating beef quality. *Meat Sci* 92:197–209 (2012).
- Hollung K, Grove H, Færgestad EM, Sidhu, MS and Berg P, Comparison of muscle proteome profiles in pure breeds of Norwegian Landrace and Duroc at three different ages. *Meat Sci* 81:487–492 (2009).
- Huang F, Huang M, Zhang H, Guo B, Zhang D and Zhou G, Cleavage of the calpain inhibitor, calpastatin, during postmortem ageing of beef skeletal muscle. *Food Chem* 148:1–6 (2014).
- Huang H and Lametsch R, Application of proteomics for analysis of protein modifications in postmortem meat, in *Proteomics in Foods*, ed. by Toldrá F and Nollet LML. Ed. Springer US, New York, pp. 111–125 (2013).
- Hwang IH, Devine CE and Hopkins DL, The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. *Meat Sci*, 65:677–691 (2003).

- Hwang IH, Park BY, Kim JH, Cho SH and Lee JM, Assessment of postmortem proteolysis by gel-based proteome analysis and its relationship to meat quality traits in pig longissimus. *Meat Sci* 69:79–91 (2005).
- Jia X, Veiseth-Kent E, Grove H, Kuziora P, Aass L, Hildrum KI and Hollung K, Peroxiredoxin-6—a potential protein marker for meat tenderness in bovine longissimus thoracis muscle. *J Anim Sci* 87:2391–2399 (2009).
- Kampinga HH, Hageman J, Vos MJ, Kubota H, Tanguay RM, Bruford EA, Cheetham ME, Chen B and Hightower LE, Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress Chaperon* 14:105–111 (2009).
- Kaufman RJ and Malhotra JD, Calcium trafficking integrates endoplasmic reticulum function with mitochondrial bioenergetics. *Biochim Biophys Acta* 1843:2233–2239 (2014).
- Keady SM, Kenny DA, Ohlendieck K, Doyle S, Keane MG and Waters SM, Proteomic profiling of bovine M. longissimus lumborum from Crossbred Aberdeen Angus and Belgian Blue sired steers varying in genetic merit for carcass weight. *J Anim Sci* 91:654–665. (2013).
- Kemp CM, Sensky PL, Bardsley RG, Buttery PJ and Parr T, Tenderness—An enzymatic view. *Meat Sci* 84:248–256 (2010).
- Khan, M. I., Jo, C., & Tariq, M. R. Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors—A systematic review. *Meat Science*, 110, 278–284.
- Kim NK, Cho S, Lee SH, Park HR, Lee CS, Cho YM, Choy YH, Yoon D, Im SK and Park EW, Proteins in longissimus muscle of Korean native cattle and their relationship to meat quality. *Meat Sci* 80:1068–1073 (2008).
- Kim YHB, Lonergan SM, Grubbs JK, Cruzen SM, Fritchen AN, Della Malva A, Marino R and Huff-Lonergan E. Effect of low voltage electrical stimulation on protein and quality changes in bovine muscles during postmortem aging. *Meat Sci* 94:289–296 (2013).
- Kregel KC, Invited review: heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J Appl Physiol* 92:2177–2186 (2002).
- Lametsch R, Karlsson A, Rosenvold K, Andersen HJ, Roepstorff P and Bendixen E, Postmortem proteome changes of porcine muscle related to tenderness. *J Agric Food Chem* 51:6992–6997 (2003).

- Lametsch R, Kristensen L, Larsen MR, Therkildsen M, Oksbjerg N and Ertbjerg P, Changes in the muscle proteome after compensatory growth in pigs. *J Anim Sci* 84:918–924 (2006).
- Lametsch R, Larsen MR, Essén-Gustavsson B, Jensen-Waern M, Lundström K and Lindahl G, Postmortem changes in pork muscle protein phosphorylation in relation to the RN genotype. *J Agric Food Chem* 59:11608–11615 (2011).
- Laville E, Sayd T, Morzel M, Blinet S, Chambon C, Lepetit J, Renand G and Hocquette JF. Proteome changes during meat aging in tough and tender beef suggest the importance of apoptosis and protein solubility for beef aging and tenderization. *J Agric Food Chem* 57:10755–10764 (2009).
- Laville E, Sayd T, Terlouw C, Blinet S, Pinguet J, Fillaut M, Glénisson J and Chérel P, Differences in pig muscle proteome according to HAL genotype: implications for meat quality defects. *J Agric Food Chem* 57:4913–4923 (2009).
- Lee WH, Choi JS, Byun MR, Koo KT, Shin S, Lee SK and Surh YJ, Functional inactivation of triosephosphate isomerase through phosphorylation during etoposide-induced apoptosis in HeLa cells: Potential role of Cdk2. *Toxicology* 278:224–228 (2010).
- Lefaucheur L, A second look into fibre typing–Relation to meat quality. *Meat Sci* 84:257–270 (2010).
- Li CB, Li J, Zhou GH, Lametsch R, Ertbjerg P, Brüggemann DA, Huang HG, Karisson AH, Hvii M and Lundström K, Electrical stimulation affects metabolic enzyme phosphorylation, protease activation, and meat tenderization in beef. *J Anim Sci* 90:1638–1649 (2012).
- Lièvre JP, Rizzuto R, Hendershot L and Meldolesi J, BiP, a major chaperone protein of the endoplasmic reticulum lumen, plays a direct and important role in the storage of the rapidly exchanging pool of Ca^{2+} . *J Biol Chem* 272:30873–30879 (1997).
- Liu J, He J, Yu J, Mao X, Zheng P, Huang Z, Yu B and Chen D, Birth weight alters the response to postnatal high-fat diet-induced changes in meat quality traits and skeletal muscle proteome of pigs. *Br J Nutr* 111:1738–1747 (2014).
- Lomiwes D, Farouk MM, Wiklund E and Young OA, Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review. *Meat Sci* 96:26–40 (2014).

- Lomiwes D, Hurst SM, Dobbie P, Frost DA, Hurst RD, Young OA and Farouk MM. The protection of bovine skeletal myofibrils from proteolytic damage post mortem by small heat shock proteins. *Meat Sci* 97:548–557 (2014).
- Londono C, Osorio C, Gama V and Alzate O, Mortalin, apoptosis, and neurodegeneration. *Biomolecules* 2:143–164 (2012).
- Lonergan EH, Zhang W and Lonergan SM, Biochemistry of postmortem muscle—Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Sci* 86:184–195 (2010).
- Longo V, Lana A, Bottero MT and Zolla L, Apoptosis in muscle-to-meat aging process: The omic witness. *J Proteomics* 125:29–40 (2015).
- Ma X, Zheng C, Hu Y, Wang L, Yang X and Jiang Z, Dietary L-arginine supplementation affects the skeletal longissimus muscle proteome in finishing pigs. *PloS one*, 10:e0117294 (2015).
- Mann M and Jensen ON, Proteomic analysis of post-translational modifications. *Nat Biotechnol* 21:255–261 (2003).
- Mao Y, Hopkins DL, Zhang Y, Li P, Zhu L, Dong P, Liang R, Dai J, Wang X and Luo X, Beef quality with different intramuscular fat content and proteomic analysis using isobaric tag for relative and absolute quantitation of differentially expressed proteins. *Meat Sci* 118:96–102 (2016).
- Marino R, Albenzio M, Della Malva A, Santillo A, Loizzo P and Sevi A, Proteolytic pattern of myofibrillar protein and meat tenderness as affected by breed and aging time. *Meat Sci* 95:281–287 (2013).
- Marti S, Realini CE, Bach A, Pérez-Juan M and Devant M, Effect of castration and slaughter age on performance, carcass, and meat quality traits of Holstein calves fed a high-concentrate diet. *J Anim Sci* 91:1129–1140 (2013).
- Meinert, L., Schäfer, A., Bjerregaard, C., Aaslyng, M. D., & Bredie, W. L. P. Comparison of glucose, glucose 6-phosphate, ribose, and mannose as flavour precursors in pork; the effect of monosaccharide addition on flavour generation. *Meat Science*, 81(3), 419–425 (2009).
- Morgan JB, Wheeler TL, Koohmaraie M, Crouse JD and Savell JW, Effect of castration on myofibrillar protein turnover, endogenous proteinase activities, and muscle growth in bovine skeletal muscle. *J Anim Sci* 71:408–414 (1993).

- Morgan JB, Wheeler TL, Koohmaraie M, Savell JW and Crouse JD, Meat tenderness and the calpain proteolytic system in Longissimus muscle of young bulls and steers. *J Anim Sci* 71:1471–1476 (1993).
- Morzel M, Terlouw C, Chambon C, Micol D and Picard B, Muscle proteome and meat eating qualities of Longissimus thoracis of “Blonde d’Aquitaine” young bulls: A central role of HSP27 isoforms. *Meat Sci* 78:297–304 (2008).
- Murgiano L, D’Alessandro A, Egidi MG, Crisa A, Prosperini G, Timperio AM, Valentini A and Zolla L, Proteomics and transcriptomics investigation on longissimus muscles in Large White and Casertana pig breeds. *J Proteome Res* 9:6450–6466 (2010).
- Muroya S, Ohnishi-Kameyama M, Oe M, Nakajima I and Chikuni K, Postmortem changes in bovine troponin T isoforms on two-dimensional electrophoretic gel analyzed using mass spectrometry and western blotting: The limited fragmentation into basic polypeptides. *Meat Sci* 75:506–514 (2007).
- Muroya S, Ohnishi-Kameyama M, Oe M, Nakajima I, Shibata M and Chikuni K, Double phosphorylation of the myosin regulatory light chain during rigor mortis of bovine longissimus muscle. *J Agric Food Chem* 55:3998–4004 (2007).
- Obuz, E., Akkaya, L., Gök, V., & Dikeman, M. E. Effects of blade tenderization, aging method and aging time on meat quality characteristics of Longissimus lumborum steaks from cull Holstein cows. *Meat Science*, 96(3), 1227–1232 (2014).
- Ohsaki H, Okada M, Sasazaki S, Hinenoya T, Sawa T, Iwanaga S, Tsuruta H, Mukai F and Mannen H, Proteomic comparison between Japanese black and holstein cattle by two-dimensional gel electrophoresis and identification of proteins. *Asian-Aust J Anim Sci* 20:638–644 (2007).
- Oliván M, Fernández-Suárez V, Díaz-Martínez F, Sierra V, Coto-Montes A, Luxán-Delgado B, Peña R, Bassols A, Fàbrega E, Dalmau A and Velarde A, Identification of Biomarkers of Stress in Meat of Pigs Managed under Different Mixing Treatments. *Br Biotechnol J* 11:1–13 (2016).
- Ouali A, Gagaoua M, Boudida Y, Becila S, Boudjellal A, Herrera-Mendez CH and Sentandreu MA, Biomarkers of meat tenderness: present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved. *Meat Sci* 95:854–870 (2013).

- Ouali A, Herrera-Mendez CH, Coulis G, Becila S, Boudjellal A, Aubry L and Sentandreu MA, Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Sci* 74:44–58 (2006).
- Ozaki T, Yamashita T and Ishiguro SI, Ca²⁺-induced release of mitochondrial m-calpain from outer membrane with binding of calpain small subunit and Grp75. *Arch Biochem Biophys* 507:254–261 (2011).
- Picard B, Berri C, Lefaucheur L, Molette C, Sayd T and Terlouw C, Skeletal muscle proteomics in livestock production. *Brief Funct Genomics* 9:259–278 (2010).
- Picard B, Gagaoua M, Micol D, Cassar-Malek I, Hocquette JF and Terlouw CE, Inverse relationships between biomarkers and beef tenderness according to contractile and metabolic properties of the muscle. *J Agric Food Chem* 62:9808–9818 (2014).
- Picard B, Le Bret B, Cassar-Malek I, Liaubet L, Berri C, Le Bihan-Duval E, Hocquette JF, Renand G, Recent advances in omic technologies for meat quality management. *Meat Sci* 109: 18–26 (2015).
- Pires VMR, Madeira MS, Dowle AA, Thomas J, Almeida AM and Prates JAM, Increased intramuscular fat induced by reduced dietary protein in finishing pigs: effects on the longissimus lumborum muscle proteome. *Mol Biosyst* 12:2447–2457 (2016).
- Polati R, Menini M, Robotti E, Million R, Marengo E, Novelli E, Balzan S and Cecconi D. Proteomic changes involved in tenderization of bovine Longissimus dorsi muscle during prolonged ageing. *Food Chem* 135:2052–2069 (2012).
- Pulford DJ, Dobbie P, Vazquez SF, Fraser-Smith E, Frost DA and Morris CA, Variation in bull beef quality due to ultimate muscle pH is correlated to endopeptidase and small heat shock protein levels. *Meat Sci* 83:1–9 (2009).
- Purslow PP, Archile-Contreras AC and Cha MC, Meat Science and Muscle Biology Symposium: Manipulating meat tenderness by increasing the turnover of intramuscular connective tissue. *J Anim Sci* 90:950–959 (2012).
- Rodrigues RTS, Chizzotti ML, Vital CE, Baracat-Pereira MC, Barros E, Busato KC, Gomes RA, Ladeira MM and Martins TS, Differences in beef quality between Angus (*Bos taurus taurus*) and Nellore (*Bos taurus indicus*) Cattle through a proteomic and phosphoproteomic approach. *PLoS one*, 12:e0170294 (2017).

- Ryder JW, Lau KS, Kamm KE and Stull JT, Enhanced skeletal muscle contraction with myosin light chain phosphorylation by a calmodulin-sensing kinase. *J Biol Chem* 282:20447–20454 (2007).
- Sayd T, Morzel M, Chambon C, Franck M, Figwer P, Larzul C, Le Roy P, Monin G, Chérel P and Laville E, Proteome analysis of the sarcoplasmic fraction of pig semimembranosus muscle: implications on meat color development. *J Agric Food Chem* 54:2732–2737 (2006).
- Schreurs NM, Garcia F, Jurie C, Agabriel J, Micol D, Bauchart D, Listrat A and Picard B, Meta-analysis of the effect of animal maturity on muscle characteristics in different muscles, breeds, and sexes of cattle. *J Anim Sci* 86:2872–2887 (2008).
- Shen J, Li N, Mao Y, Zhang Y and Luo X, Protein changes in Longissimus dorsi muscle of Chinese Yellow. *J Anim Vet Adv* 11:2301–2306 (2012).
- Shibata M, Matsumoto K, Oe M, Ohnishi-Kameyama M, Ojima K, Nakajima I, Muroya S and Chikuni K. Differential expression of the skeletal muscle proteome in grazed cattle. *J Anim Sci* 87:2700–2708 (2009).
- Silva, Luiz Henrique Pereira. Effect of castration and maturity on body glucose sensitivity, carcass composition, meat quality traits and muscle proteome and phosphoproteome of Nellore male cattle. PhD thesis, Univerisdade Federal de Viçosa, 2018.
- Trivedi D K, K A Hollywood, N.J. W. Rattray, et al.. Meat, the metabolites: an integrated metabolite profiling and lipidomics approach for the detection of the adulteration of beef with pork. *Analyst*, 141, 2155-2164 (2016)
- Troy DJ and Kerry JP, Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Sci* 86:214–226 (2010).
- Whipple G, Koohmaraie M, Dikeman ME, Crouse JD, Hunt MC and Klemm RD, Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. *J Anim Sci* 68:2716–2728 (1990).
- Xu YJ, Jin ML, Wang LJ, Zhang AD, Zuo B, Xu DQ, Ren ZQ, Lei MG, Mo XY, Li FE, Zheng R, Deng CY and Xiong YZ, Differential proteome analysis of porcine skeletal muscles between Meishan and Large White. *J Anim Sci* 87:2519–2527 (2009).

Yoshinori Kodani, Takuya Miyakawa, Tomohiko Komatsu & Masaru Tanokura. NMR-based metabolomics for simultaneously evaluating multiple determinants of primary beef quality in Japanese Black cattle. Scientific Reports volume 7, Article number: 1297 (2017).

Zhang Q, Lee HG, Han JA, Kang SK, Lee NK, Baik M and Choi YJ, Differentially expressed proteins associated with myogenesis and adipogenesis in skeletal muscle and adipose tissue between bulls and steers. *Mol Biol Rep* 39:953–960 (2012).

Zhong W, Jiang Z, Zheng C, Lin Y, Yang L and Zou S, Relationship between proteome changes of Longissimus muscle and intramuscular fat content in finishing pigs fed conjugated linoleic acid. *Br J Nutr* 105:1–9 (2011).

PROTEOMICS AND METABOLOMICS OF MEAT QUALITY

Mario Luiz Chizzotti ^a, Rafael Torres de Souza Rodrigues ^b, Luiz Henrique Pereira Silva ^a, Mauricio Miguel Estrada ^a, Débora Evelyn de Freitas Assis ^a, Pedro Del Bianco Benedeti ^a

^aDepartment of Animal Science, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 36570-900, Brazil

^bDepartment of Animal Science, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, PE, 56300-990, Brazil

ABSTRACT

Meat quality can be affected by several factors such as individual variation, genetic group, nutrition and feeding management, sex class, slaughter age/weight, pre-slaughter stress, carcass electrical stimulation and meat aging. A better molecular understanding of how these factors influence meat quality has been obtained through proteomic, phosphoproteomic and metabolomics approaches. The aim of this review was to show results of proteomic and metabolomics studies evaluating the main factors affecting meat quality. In addition, since the relationship between meat tenderness and heat shock proteins is a very controversial topic, this subject has been addressed separately. Apoptosis, glycolysis, proteolysis and regulatory proteins of myofilaments has been highlighted through proteomic and phosphoproteomic studies as the major molecular events behind the factors affecting meat quality. Differences related to fiber type have been reported to be important. Flavor, safety and nutritional properties are also relevant aspects defining meat quality. In this context, MS-based metabolomics approaches have demonstrated correlations between relevant beef aspects with consumer quality perception.

INTRODUCTION

Meat is one of the main sources of animal protein consumed in the world. However, consumer expectations concerning the meat quality are often not met consisting in a great problem for industry

that seeks to understand the mechanisms related to meat quality, in order to develop management and handling strategies before and after slaughter to provide a product with more consistent quality (Troy et al., 2010; Hocquette et al., 2012; Picard et al., 2015).

Tenderness, color and marbling are the major meat quality attributes considered by consumers during their purchase decision (Font-i-Furnols et al., 2014). Several factors may affect these attributes and they can be classified in pre and post-slaughter. The main pre-slaughter factors are: individual variation, genetic group, nutrition and feeding management, slaughter age, sex class and pre-slaughter stress. Carcasses electrical stimulation and meat aging can be considered as the major post-slaughter factors (Guerrero et al., 2013).

Proteomics is a molecular biology technique that studies proteins and has been heavily used in Meat Science to promote a better understanding on the mechanisms linked to meat quality, because proteins are the main constituents of muscle tissue and biochemical changes related to conversion of muscle to meat and structural alterations that occur during meat aging are controlled by enzymes (D'Alessandro et al. 2013). Furthermore, as proteomics can compare the abundance of many proteins at the same time, it has been possible to identify new proteins linked to meat quality, which had not previously been studied with targeted methods (Morzel et al., 2008). In addition, as proteins are the “end products” of genes, differences in their abundance could reflect differences in gene expression which may allow the development of biological markers.

Proteins may undergo post-translational modifications that can change their structure and function (Mann et al., 2003). Phosphorylation stands out between the major post-translational modifications. Phosphoproteomics is a branch of proteomics to study phosphorylated proteins. Many of the metabolic and structural changes that take place during the conversion of muscle to meat are regulated by protein phosphorylation (Huang et al., 2013). Nevertheless, other post-translational modifications can also affect

protein folding, conformation, distribution, stability and activity, including Glycosylation, Ubiquitination, S-nitrosylation, Methylation, N-acetylation, Lipidation and Proteolysis, increasing exponentially the complexity of proteome.

Despite protein abundance, the identification of differential metabolites in beef through metabolomic approach has also enormous potential to elucidate preferential pathways and end products related to biological activity and meat characteristics such as flavor. Metabolomics refers to the identification and quantification of small molecule metabolic products (the metabolome) of a tissue/organ/cell, present at a specific time point, often using techniques such as Mass spectrometry and Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy. Most of metabolome results from enzyme activity, and therefore it can complement proteome profile in the understanding of key regulation factors. Metabolomics are useful for a better understating of off-flavors development in meats as well as to clarify the main driven events on undesirable meat characteristics.

The aim of this review was to show results of proteomic and metabolomics studies evaluating the main factors affecting the meat quality. We have focused our attention on the following factors: individual variation, genetic group, nutrition and feeding management, sex class, slaughter age, pre-slaughter stress, carcass electrical stimulation and meat aging. In addition, when available, we will also present results of phosphoproteomic and metabolomics approaches evaluating these factors. Moreover, as the identification of several proteins belonging to the family of heat shock proteins (HSPs) linked to differences in meat tenderness has been one of the most important contributions of proteomics and phosphoproteomics to Meat Science, we will start this review by addressing the relationship between HSPs and meat tenderness which still is a very controversial issue.

HEAT SHOCK PROTEINS AND MEAT TENDERNESS

When caspase-dependent apoptosis was suggested as a major responsible for meat tenderization (Ouali et al., 2006), the study of HSPs became of great interest to Meat Science. HSPs are members of a great family of proteins expressed in different tissues and located in diverse cellular compartments and can be classified into 5 classes according to their approximate molecular weights (kDa): HSP40 (DNAJ), HSP70 (HSPA), HSP90 (HSPC), HSP100 (HSPH) and small HSPs (HSPB), which are formed by different proteins that differ in structure, location, type of stressor and function (Kampinga et al., 2009). For example, within the family of HSP70, heat shock protein family A (Hsp70) member 1A is localized in the cytoplasm and nucleus, while mitochondrial stress-70 protein is located in the mitochondria and 78 kDa glucose-regulated protein in the endoplasmic reticulum (Kregel et al., 2002). Although HSPs have been initially associated with the heat stress, they are not exclusively affected by this stressor (Kregel et al., 2002).

Several studies have found a relationship between meat tenderness and HSPs abundance (Carvalho et al., 2014; Guillemain et al., 2012; Kim et al., 2008). Due to chaperone activity being highly conserved among the HSPs, many research groups have discussed the involvement of HSPs in the meat tenderization process, without considering their singularities. In general, when the association between HSPs abundance and meat tenderness is positive, it has been suggested that HSPs would prevent the formation of protein aggregates immediately after slaughter and this would facilitate the activity of proteolytic enzymes during meat aging (Morzel et al., 2008). Conversely, other studies have reported a negative correlation between HSPs abundance and meat tenderness and, in these cases, it has been proposed that the anti-apoptotic effect of HSPs could prevent or delay the meat tenderization by apoptosis (Picard et al., 2010). These contradictions about the effect of HSPs on meat tenderness might be related to their different cell locations, stressor and activities. Thus, it has been recommended that the role of HSPs on meat

tenderness should be evaluated by considering their singularities (Ouali et al., 2013).

It was initially proposed that HSPs would affect meat tenderness by their anti-apoptotic role as follows: 1) Forming complex with active caspases (initiators and effectors) preventing their activity; 2) Protecting caspase substrates, preventing or delaying their degradation; and 3) Reinstating damaged protein. Later, other mechanisms of how HSPs could affect meat tenderness were elucidated. For example, it was reported that $\alpha\beta$ -crystallin, which belongs to the class of small HSPs and is also known as heat shock protein beta-5, can be an alternate substrate for μ -calpain, preventing the degradation of structural proteins such as titin and desmin (Lomiwes et al., 2014). Furthermore, it was observed that the levels of heat shock protein beta-5 in the sarcoplasmic fraction had greater reduction during the meat aging at muscle with the lowest ultimate pH, suggesting that HSPs could migrate from the sarcoplasmic fraction to myofibrillar during muscle acidification to associate with myofilaments protecting them against denaturation and calpain/caspase-mediated proteolysis (Lomiwes et al., 2014; Pulford et al., 2009)

Interestingly, it has been reported that under conditions of acute stress such as those found in muscle after slaughter due to interruption in the supply of nutrients and oxygen and pH decline, HSPs could also trigger apoptosis (D'Alessandro et al., 2012). Moreover, some HSPs are stimulated by glucose deprivation and Ca^{2+} influx, such as 78 kDa glucose-regulated protein and mitochondrial stress-70 protein, conditions that occur in muscle after slaughter. Mitochondrial stress-70 protein is the main mitochondrial HSP and is part of a communication system between endoplasmic reticulum and mitochondria, which leads Ca^{2+} from the former to the latter. Accumulation of Ca^{2+} in mitochondria can cause mitochondrial membrane depolarization and the release of pro-apoptotic factors inducing caspase-dependent apoptosis. Mitochondrial stress-70 protein can also contribute to apoptosis by forming complexes with mitochondrial calpain and pro-apoptotic

factors allowing their transport into the mitochondria, which may also induce mitochondrial membrane depolarization and subsequent release of pro-apoptotic factors in the cytoplasm (Feng et al., 2005; Ozaki et al., 2011). This could explain why the mitochondrial stress-70 protein abundance had negative correlation with both pH at 3 hours and ultimate pH in cattle muscle and positive correlation with calpain (Gagaoua et al., 2015). Moreover, it could also explain why muscle classified as tender beef had higher mitochondrial stress-70 protein abundance (Guillemin et al., 2011; Picard et al., 2014).

A communication model between endoplasmic reticulum and mitochondria has been suggested, wherein 78 kDa glucose-regulated protein participates in maintaining Ca^{2+} in the endoplasmic reticulum, while mitochondrial stress-70 protein forms part of the communication system that leads Ca^{2+} from the endoplasmic reticulum to mitochondria, which promotes apoptosis (Kaufman et al., 2014). Our recent study was in agreement with this model. There was a greater abundance of mitochondrial stress-70 protein in Angus (*Bos taurus*), while there was an increased abundance of 78 kDa glucose-regulated protein in Nellore (*Bos indicus*) *longissimus* muscle, which might suggest a greater susceptibility of Angus muscle to apoptosis (Rodrigues et al., 2017). This was intriguing because the calpain/calpastatin system has been related to explain the difference in meat tenderness between taurine and zebu (Whipple et al., 1990). In this way it has recently been reported that the calpain/calpastatin system may be related to the caspase system (enzymes responsible for apoptosis), in which caspase effectors could decrease calpastatin inhibitory activity over calpain (Lana & Zolla, 2016). Thus, we have suggested that the lower activity of calpastatin (calpain inhibitor) in taurine muscle could be related to its greater susceptibility to apoptosis, which would result in lower inhibition of calpain activity and consequently a more tender beef in taurine than zebu (Rodrigues et al., 2017). In addition, calcium-binding proteins such as 78 kDa glucose-regulated protein have been reported to retard meat tenderization

by decreasing the amount of free calcium in the cytoplasm required to activate calpain.

Post-translational modifications such as phosphorylation could also affect the activity of small HSPs and their relationship with meat tenderness (Lomiwes et al., 2014). It was observed that muscle classified as tough beef had greater phosphorylation of heat shock protein beta-1, which would be associated with the dissociation of its oligomeric state into smaller oligomers and monomers that would be more effective against apoptosis. On the other hand, the phosphorylation effect of small HSPs and its relationship with meat tenderness is still controversial and appears to be a more complex process. For example, another study reported that heat shock protein beta-1 was more phosphorylated in muscle classified as tender beef, which could be related to dissociation of the complex heat shock protein beta-1 with serine/threonine kinase triggering apoptosis (D'Alessandro et al., 2012). In addition, it was observed that the phosphorylation level of heat shock protein beta-6 decreased during beef aging, which would indicate a reduction in the inhibitory effect of it on the initiators and effectors caspases (Longo et al., 2015). However, the phosphorylation level of heat shock protein beta-5 increased during beef aging, which might be linked to progress of apoptosis.

INDIVIDUAL VARIATION

Individual variation is the difference in meat quality between animals of the same genetic group raised under identical management conditions. This is one of the main factors studied by proteomics aiming to identify differentially abundant proteins or post-translational modifications related to meat quality. One of these studies has compared the muscle proteomic profile of Korean native cattle classified for high or low-quality beef (color score, tenderness and intramuscular fat) (Kimet al., 2008). The high-quality beef group had higher abundance of alpha actin, which would be associated with a decrease in the myofilament integrity and an increase in the myofibril fragmentation, because alpha actin

is the major thin myofilament forming the muscle structure. On the other hand, the low-quality beef group had greater abundance of T-complex protein-1 and heat shock protein beta-1, which are proteins involved in the recovery of denatured proteins and protecting the myofibrillar structures integrity. Thus, it was proposed that increased abundance of these proteins could delay the beef tenderization in the low-quality beef group. Similar results were observed in a recent study comparing the muscle proteome of Xiangxi yellow×Angus cattle with high or low intramuscular fat content (Mao et al., 2016), in which the abundance of T-complex protein-1 and heat shock protein beta-1 were also higher in bovine muscle with low intramuscular fat content. Interestingly, it was also shown that bovine muscle with high intramuscular fat content had an increased abundance of proteins involved in oxidative metabolism (cytochrome b-c1 complex subunit-2, cytochrome-c oxidase subunit-4 isoform-1 and cytochrome-c oxidase subunit-6C) and lower abundance of enzymes related to glycolytic metabolism (phosphoglycerate kinase-1 and triosephosphate Isomerise). As will be discussed later, differences in muscle fiber type (oxidative vs. glycolytic) are linked to differences in intramuscular fat content.

Another study reported a greater abundance of proteins of the outer and inner mitochondrial membranes (prohibitin, mitofilin, elongation factor Tu, two voltage-dependent anion-selective channel protein-1 and protein-2 and NADH-ubiquinone oxidoreductase) in Charolais cattle muscle classified for tender beef compared to tough beef group (Laville et al., 2009). It was proposed that this result could indicate a greater deterioration of the mitochondrial membrane in the tender beef group, which could induce apoptosis.

Studies of proteomics have also helped us to understand individual variation in meat tenderness in zebu (Carvalho et al., 2014). The muscle protein profile of Nellore cattle classified for tough or tender beef has been compared. Among the findings, we can highlight differences in the abundance of heat shock proteins and structural proteins. The tender beef group had greater

abundance of heat shock protein beta-1 (two spots) than the tough beef group (one spot). However, the tough beef group had greater abundance of heat shock protein 70 kDa 1A and structural and contractile proteins (myosin light chain-1/3, myosin regulatory light chain-2 and tropomyosin alpha-1 chain). These contradictory relationships between heat shock proteins abundance and meat tenderness could be related to different activities of heat shock proteins and post-translational modifications as has already been proposed before.

Besides helping to elucidate the molecular mechanisms related to individual variation in tenderness and marbling, proteomics studies have also improved our understanding of biochemical factors underlying the individual variation in meat color. It has been reported that muscle of Pietrain crossbred pigs classified as dark meat had greater abundance of proteins involved in oxidative metabolism (ATPase β -subunit, succinate dehydrogenase, NADH dehydrogenase and hemoglobin) and lower abundance of glycolytic enzymes (Enolase-1, enolase-3 and glycerol 3-phosphate) than those classified as light meat (Sayd et al., 2006). However, light meat muscle had greater abundance of glutathione transferase- ω , which is reported to activate the RyR (ryanodine receptor) calcium release channels of skeletal muscle. On the other hand, dark meat muscle had greater abundance of the chaperone glucose-regulated protein 58 kDa. This chaperone is present in the sarcoplasmic reticulum and helps to retain calcium in this organelle. This result was interesting because the release of calcium from the sarcoplasmic reticulum into the sarcoplasm is a key event for ATP depletion and drop in muscle pH, which in turn causes protein denaturation and consequently changes in meat color.

In another study comparing individual variation in meat color, it was reported that color-stable steaks had greater abundance of glycolytic enzymes (phosphoglucosmutase-1, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and pyruvate kinase-M2) and myofilaments expressed in fast-twitch fibers (myosin regulatory light

chain-2 and myosin light chain-1/3) than color-labile steaks. This result could indicate a possible low oxygen consumption, which could minimize myoglobin autoxidation and consequently reduce metmyoglobin accumulation in color-stable steaks (Canto et al., 2015). Intriguingly, color-labile steaks had greater abundance of the isoform of myoglobin with the lowest isoelectric point, which could be related to post-translational modifications, such as phosphorylation.

Studies combining proteomics and phosphoproteomics have also provided new insights to help explain the effect of individual variation on beef quality. Maremmana cattle muscle classified as tender beef had greater glycolytic enzymes abundance (alpha enolase-1, phosphoglucosmutase-1 and triosephosphate isomerase), which were less phosphorylated (alpha enolase-1, triosephosphate isomerase and glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) compared to tough beef (D'Alessandro et al., 2012). Based on additional metabolomics data and literature, it was suggested that glycolytic enzymes phosphorylation could inhibit their activity, which would have delayed the muscle pH drop in the tough beef group.

In a similar study conducted by the same group (D'Alessandro et al., 2012), Chianina cattle muscle classified as tough beef had greater actin phosphorylation compared to tender beef, which could be related to its lower susceptibility to apoptosis. Furthermore, the tough beef group had greater abundance of myofilaments related to fast-twitch fiber (fast-twitch myosin light chain-1) and lower abundance of myofilaments expressed in slow-twitch fiber (slow skeletal troponin-T). Although this issue is still controversial, especially in cattle, it has been reported that muscle fiber type may affect meat quality due to morphological and biochemical differences (Lefaucheur et al., 2010).

Differences in phosphorylation of glycolytic enzymes and myofilaments have also been reported in sheep muscle (fat-tailed sheep × tail sheep) classified for tough or tender meat (Chen et al., 2016). The tough meat group had greater phosphorylation of glycolytic

enzymes (glycogen phosphorylase, 6-phosphofructokinase, enolase, phosphoglycerate kinase, lactate dehydrogenase-A and aldolase-A) and myosin light chain-2. It was suggested that increased phosphorylation of glycolytic enzymes could be related to their lower activity, while phosphorylation of myosin light chain-2 could be a type of biochemical memory enriching the muscle contraction force.

Animals with tougher meat had greater glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase phosphorylation, while those with meat more tender had greater glycogen phosphorylase phosphorylation, which would be related to lower activity of the former and greater activity of the latter. In addition, tougher meat had greater phosphorylation of myosin, which would increase the interaction of this filament with adjacent molecules, resulting in less tender meat.

GENOTYPE

Genotype is one of the main factors affecting carcass characteristics and meat quality attributes, and proteomics studies have contributed to a better understanding of this effect. For example, a study was conducted with cattle to evaluate the effect of genetic group for different purposes, Friesian (dairy), Romagnola×Podolian crossbreed (beef), and Podolian (rustic), on the proteolytic pattern of myofibrillar protein (Marino et al., 2013). Podolian cattle had lower intramuscular fat content and tougher beef at 1 and 7 days of aging. Furthermore, Podolian cattle beef had greater number of spots on 2DE gels at 21 days of aging. This result would be due to higher proteolysis in Podolian beef, highlighted by greater amount of spots of myosin heavy chain fragments, which could explain the lack of difference in the beef tenderness among the three genotypes at 14 and 21 days of aging. In addition, Podolian beef had higher amount of troponin spots. It has been showed that troponin-T degradation is related to beef tenderization during aging (Cruzen et al., 2014).

In another study, it was compared the muscle protein profile between Japanese Black (high marbling, tenderness and beef

flavor) and Holstein cattle (Ohsaki et al., 2007). Holstein muscle had greater abundance of skeletal muscle ankyrin repeat protein-2, myosin light chain-2 and OGN protein (mimecan). The higher abundance of myosin light chain-2 in Holstein muscle could be related to its greater fast-twitch fibers proportion, because this protein is more expressed in fast-twitch fiber, while the greater abundance of OGN protein might be associated with the increased connective tissue content, since OGN protein would have an important role in collagen fibrillogenesis and be expressed in connective tissue.

Differences in the abundance of proteins related to fiber type were also shown in a study comparing genetic groups of cattle with different body maturity and intramuscular fat content (Keady et al., 2013). It was reported that Belgian Blue crossbred muscle (late body maturity genotype and high lean muscle tissue deposition) had greater abundance of fast-twitch myosin light chain-1 and phosphoglucosmutase-1 (enzyme responsible to drive glucose into glycolysis or glycogenesis) than Angus crossbred muscle (early body maturity genotype and high intramuscular fat deposition potential), which could reflect a greater fast-twitch glycolytic fibers proportion and increased glycogen content in the Belgian Blue crossbred muscle. However, Angus crossbred muscle had greater abundance of aconitase-2 and 2-oxoglutarate dehydrogenase. This result was consistent with the highest intramuscular fat content in Angus crossbred, because these enzymes are linked to production of NADPH necessary for fatty acid synthesis via the pentose phosphate pathway.

Differences between proteins related to fiber type were also observed our recent study. Angus muscle had greater abundance of myofilament expressed in slow-twitch fiber (myosin light chain-3), while Nellore muscle had greater abundance of myofilaments expressed in fast-twitch fibers (troponin-T and myosin light chain-1). Furthermore, Angus muscle also had greater abundance of prohibitin, which could be related to its higher content of intramuscular protein compared to Nellore muscle, because

prohibitin has been proposed to stimulate adipogenesis and lipogenesis (Ande et al., 2014). Differences in phosphoprotein abundance were also observed between Nellore and Angus. Nellore had a higher level of alpha actin-1 phosphorylation, which could be a marker of resistance to apoptosis as previously discussed (Rodrigues et al., 2017). Thus, differences in meat tenderness between taurine and zebu could also be related to apoptosis. In addition, Angus had greater troponin-T phosphorylation, which is one of the substrates of calpain during meat tenderization. This result was interesting because troponin-T phosphorylation has been suggested to increase its susceptibility to calpain (Di Lisa et al., 1995). Interestingly, differences in the level of phosphorylation of glycolytic enzymes were also observed in our study (Rodrigues et al., 2017). Angus had greater phosphoglucumutase-1 phosphorylation while Nellore had higher triosephosphate isomerase phosphorylation, which could be related to differences in glycolysis between them, because phosphoglucumutase-1 phosphorylation has been reported to increase its activity (Gururaj et al., 2004), whereas triosephosphate isomerase phosphorylation has been proposed to inhibit its activity (Lee et al., 2010). This result could be related to differences in muscle pH drop after slaughter and consequently activation of proteolytic enzymes, which could also affect meat tenderness (Lonergan et al., 2010).

The abundance of glycolytic enzymes (triosephosphate isomerase-1 and phosphoglucumutase-1) and myosin binding protein-H (regulatory protein of the thick filament that is mainly found in fast skeletal muscle) were higher in Large White pigs muscle than Meishan pigs muscle (breed with high intramuscular fat content) (Xu et al., 2009). However, Meishan pigs muscle had greater abundance of ATPase β chain (enzyme involved in mitochondrial energy metabolism) and myosin light chain-1 slow-twitch muscle-A and myosin light chain-1 slow-twitch muscle-B. Given these results, it was suggested that animals selected for increased lean meat deposition would have higher fast-twitch fiber

proportion and greater glycolytic energy metabolism, while animals with higher intramuscular fat content would have higher slow-twitch fiber proportion and greater oxidative energy metabolism.

SEX CLASS

Sex class is one of the largest sources of variation in meat quality. Steer's beef is usually more tender, fatter and less dark than bull beef (Marti et al., 2013). Generally, bull has greater insoluble collagen content in muscle, which is related to its lower meat tenderness (Boccard et al., 1979). Bulls had higher abundance of myosin light chain-1, ankyrin repeat domain-containing protein-1 and heat shock protein beta-1, and lower abundance of cofilin-2 than steers. It was proposed that the greater abundance of ankyrin repeat domain-containing protein-1 and heat shock protein beta-1 in bulls would be related to its higher muscle hypertrophy, while the greater abundance of cofilin-2 in steers would be negatively related to muscle hypertrophy due to actin filaments depolymerization. This result could indicate that bulls would have lower muscle protein turnover than steers, which might reduce beef tenderness.

In a recent study of our group comparing proteome and phosphoproteome of bulls and steers demonstrated that castration has a marked effect on muscle fiber type (Silva, 2018). Castration upregulated the abundance of glycolytic enzymes, while the oxidative phosphorylation protein ATP5B was downregulated. In addition, abundance of troponin T fast isoforms (TNNT3) was upregulated by castration, while the slow isoform (TNNT1) tended to decrease ($P < 0.10$) abundance. Castrated cattle have higher fast-twitch glycolytic fiber proportion and lower slow-twitch oxidative fiber than intact males. Fast-twitch glycolytic fiber generally has greater volume and sectional area than slow-twitch oxidative fiber, and a greater glycogen content, which is crucial for pH decline post mortem, which promotes Ca release into sarcoplasm and activates calpains.

A study has been conducted to compare the abundance of 24 protein biomarkers of beef tenderness among bulls and steers

muscles by western blot (Guillemin et al., 2011). As previously suggested, steers had greater abundance of fast skeletal muscle myosin light chain-1, myosin heavy chain IIx (isoform expressed in fast-twitch fiber) and glycolytic enzymes (enolase-1 and enolase-3). Furthermore, steers had higher abundance of m-calpain and μ -calpain. In addition, differences in the heat shock proteins abundance were also observed. Bulls had higher abundance of alpha-crystallin B chain and heat shock protein beta-1, which are generally known to inhibit apoptosis. However, steers had higher abundance of heat shock protein family A (HSP70) member 8 and mitochondrial stress-70 protein. Intriguingly, although mitochondrial stress-70 protein is associated with cellular protection due to its chaperone activity, it has also been implicated in triggering apoptosis. Therefore, differences in beef tenderness between bulls and steers could also be related to apoptosis.

NUTRITION AND FEEDING MANAGEMENT

Although nutrition and feeding management are key factors affecting meat quality, there are few studies that have evaluated their effect on changes in muscle proteome. In one of these studies, Japanese Black cattle previously raised in feedlot with a concentrated-based diet were finished on pasture or kept in feedlot (Shibata et al., 2009). Pasture-finished cattle muscle had greater abundance of slow-twitch myosin light chain-2 and proteins related to oxidative metabolism (myoglobin and adenylate kinase-1). Conversely, feedlot-finished cattle muscle had greater abundance of glycolytic enzymes (β -enolase-3, fructose-1,6-bisphosphate aldolase-A and triosephosphate isomerase). It was suggested that these results could indicate a conversion in muscle fiber type associated with metabolic changes when the animals moved from feedlot to pasture. Although beef quality characteristics have not been evaluated, this result was interesting because muscle fiber type (slow-twitch or fast-twitch) and predominant energy metabolism (glycolytic or oxidative) are related to meat quality (Choi et al., 2009).

In another study, the effect of compensatory growth on protein abundance in pigs muscle at 0 and 48 h after slaughter was evaluated (Lametsch et al., 2006). Animals that had compensatory growth were feed-restricted (60% of *ad libitum* intake) from 28 to 80 days and then fed *ad libitum* until 140 days when were slaughtered. Two members of the heat shock protein family (heat shock cognate 70 kDa protein and heat shock protein beta-1) were more abundant in pigs muscle that exhibited compensatory growth. Because these proteins regulate the fate of damaged proteins and participate in the myofilaments stabilization, it was proposed that this result would be linked to greater muscle protein turnover in response to compensatory growth. Furthermore, pig showing compensatory growth had higher abundance of the mitochondrial protein sulfite oxidase and two nuclear proteins (elongin-B and intracellular chloride channel-1) at 48 h after slaughter, which could be related to greater number of mitochondria and satellite cells and/or lower mitochondrial and nuclear membranes stability in response to compensatory growth. So, it was suggested that higher muscle protein turnover would be associated with greater meat tenderness in pigs exhibiting compensatory growth.

Furthermore, the effect of high-fat diet (10% lard-supplemented) on meat quality and changes in muscle proteome has also been reported in pigs (Liu et al., 2014). High fat-fed pigs had greater intramuscular fat content than control group. Interestingly, high fat-fed pigs muscle had lower abundance of myofilaments (myosin heavy chain, fast skeletal muscle troponin T and tropomyosin) and greater abundance of energy metabolism enzymes (phosphoglucosmutase-1 and adenylate kinase-1) and stress response and apoptosis-related proteins (heat shock protein, α -crystallin-related, B-6, calreticulin, excision repair protein and calmodulin). Therefore, it was suggested that high-fat diet could modify the muscle structure, energy metabolism, stress response and apoptosis, which could affect meat quality.

More recently, it was shown that 1% L-arginine-supplemented pigs had higher intramuscular fat content

(approximately 32%) compared to control group (Ma et al., 2014). Moreover, L-arginine-supplemented pigs muscle had greater abundance of slow-twitch skeletal troponin-I and lower abundance of myosin heavy chain-2b (fast-twitch isoform) and glucose-related enzymes (phosphorylase glycogen, phosphoglycerate kinase-1 and muscle-specific enolase beta subunit). Thus, higher intramuscular fat content in the supplemented animals would be associated with a higher proportion of slow-twitch oxidative fibers. It has been suggested that the intramuscular fat content is positively related to the oxidative muscle fibers proportion.

Proteomic studies have also been performed to explain the molecular mechanisms involved in the positive effect of dietary protein restriction on the content of intramuscular fat. Pigs fed a low protein diet (13 vs 16%) had higher intramuscular fat content and lower muscle abundance of glycolytic enzymes (β -enolase, glyceraldehyde-3-P dehydrogenase, lactate dehydrogenase-A, ATP-dependent 6-phosphofructokinase, phosphoglucomutase-1, phosphoglycerate mutase and pyruvate kinase) and fast myosin heavy chain isoforms, indicating that dietary protein restriction may increase intramuscular fat content by shifting the metabolic properties of muscle fibers from glycolytic to oxidative (Pires et al., 2016).

SLAUGHTER AGE

Slaughter age may be considered one of the major management factors affecting meat quality, because animals slaughtered at a later stage generally have tougher meat, mainly due to an increase in insoluble collagen content (Purslow et al., 2012). We recently evaluated changes in muscle protein profile related to meat quality in response to slaughter age (Silva, 2018) and despite differences in the structural proteins myosin regulatory light chain 2, and actin alpha 1, most differentially expressed proteins related to maturity were related to energy metabolism, including glycogen metabolism, glycolysis, oxidative phosphorylation, creatine-phosphate metabolism, and cytosolic NADH metabolism. Our results suggest that with the advance of maturity and the decrease of muscle

growth rate the mitochondrial ATP generation is decreased. As cattle become heavier energetic pathways such as oxidative phosphorylation subunits, creatine kinase, and glycolytic enzymes are downregulated indicating a shift to glycolytic metabolism. The consistent increase of glycolytic enzymes with advancing of maturity suggest that muscle hypertrophy decreases oxygen availability favoring anaerobic/glycolytic dependent metabolism of skeletal muscle.

Charolais cattle slaughtered at 18 months had higher abundance of alpha-actin and glycolytic enzymes (alpha-enolase and triosephosphate isomerase) compared to those slaughtered at 14.5 months. However, animals slaughtered at 14.5 months had greater abundance of heat shock protein beta-1 (Gulyás et al., 2015). According to the authors, these results could indicate an increased glycolytic activity in muscle of older cattle. Furthermore, the greater abundance of actin in muscle of older cattle would be related to an increase in the muscle fiber size, which in turn could affect beef tenderness. In addition, it was suggested that the greater abundance of heat shock protein beta-1 in muscle of younger cattle could be positively associated with beef tenderness.

Another research was conducted with pigs slaughtered at 6, 9 or 12 months (Hollung et al., 2009). Muscle of older pigs had greater abundance of glycolytic enzymes (enolase-3 and triosephosphate isomerase-1). However, older pigs had lower abundance of actin, which could indicate lower myofibrils degradation.

PRE-SLAUGHTER STRESS

Pre-slaughter stress is a major contributor to reduction in meat quality. The conversion of muscle to meat involves many physical and chemical changes that can be influenced by animal physiological stage prior to slaughter. In cattle, pre-slaughter stress is mainly related to depletion of muscle glycogen stores that contributes to high ultimate pH and production of dry, firm and dark (DFD) beef. In pigs and poultry, pre-slaughter stress is mostly linked to an accelerated glycolysis immediately after slaughter that leads to a fast decrease in meat pH, resulting in production of pale, soft and exudative (PSE) meat (Adzitey et al., 2011). Proteomic and phosphoproteomic studies have allowed a better understanding of the pre-slaughter stress effect on meat quality. DFD beef had lower abundance of myosin light chain-3, myosin light chain-6B, myosin regulatory light chain-2 and troponin C type-2 than normal beef (Franco et al., 2015). The phosphorylation level of myosin regulatory light chain-2 was greater in DFD beef than normal beef, and it was hypothesized that the higher pH in DFD beef could inhibit the activity of acid phosphatase, which is responsible for dephosphorylation of myosin regulatory light chain-2. It has been reported that phosphorylation of myosin regulatory light chain-2 can increase the strength of muscle contraction (Ryder et al., 2007), which could affect meat tenderness. In another study, the muscle proteome of pigs submitted to different pre-slaughter management (unmixed on farm, during transport and at lairage; mixed in farm and unmixed during transport and at lairage; and mixed in farm, during transport and at lairage) aiming to cause different levels of stress was compared. Animals subjected to pre-slaughter stress had greater heat shock 70kDa protein-1B and lower adenylate kinase-1 abundance, which could indicate a higher anti-apoptotic response and early post-mortem muscle cell dismantlement in pre-slaughter stressed pigs (Oliván et al., 2016).

CARCASS ELECTRICAL STIMULATION

Electrical stimulation of carcass has been linked to improve beef quality promoting a faster muscle pH drop due to increased glycolysis rate that accelerates *rigor mortis* and prevents cold shortening. In addition, electrical stimulation could also improve meat tenderness stimulating the breakdown of myofilaments and structural proteins (Hwang et al., 2003). Proteomics and phosphoproteomics have allowed a deeper understanding of how electrical stimulation improves beef quality. It has been shown that electrically stimulated muscle had lower abundance of enzymes related to energy metabolism (α -enolase and creatine kinase M chain) than unstimulated muscle, which could be related to higher glycolysis and energy metabolism due to electrical stimulation, resulting in the degradation of these enzymes (Bjarnadóttir et al., 2011). Furthermore, electrically stimulated muscle had lower abundance of myofilaments and structural proteins (fast troponin-T, actin and desmin), which could be associated with myofibrillar fragmentation and beef tenderization. However, electrically stimulated muscle had greater abundance of small heat shock proteins (heat shock protein family B (small) member-6, α -crystallin B chain and heat shock protein beta-1) at 1 h after stimulation, indicating a greater stress in response to electrical stimulation, and supporting the hypothesis that postmortem proteolysis is enhanced in electrically stimulated beef.

Similar result was obtained in another study (Shen et al., 2012). Electrically stimulated beef had lower abundance of the protein belonging to the contractile apparatus myosin binding protein H and energy metabolism enzymes (triosephosphate isomerase and M-type creatine kinase) than unstimulated beef, suggesting greater proteolysis and muscle energy metabolism in response to electrical stimulation.

More recently, it was also reported that the abundance of glycolytic enzymes (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, fructose-bisphosphate aldolase A, phosphoglycerate kinase-1 and pyruvate kinase isozyme M1) decreased in electrically stimulated

beef, indicating greater glycolysis due to electrical stimulation (Kim et al., 2013). Interestingly, it was also observed that the abundance of Annexin A5 increased in electrically stimulated beef. As Annexin A5 is associated with the sarcoplasmic reticulum membrane and is involved in the calcium flux regulation, it was suggested that its higher abundance in electrically stimulated beef could be associated with the calpain system and activation of calcium-dependent proteolysis.

Electrical stimulation of carcass may affect the postmortem muscle energy metabolism promoting post-translational changes in enzymes such as phosphorylation. Electrically stimulated cattle muscle had lower phosphorylation of enzymes involved in energy metabolism and glycolysis (creatine kinase M chain, fructose-bisphosphate aldolase C-A, β -enolase and pyruvate kinase) than unstimulated muscle (Li et al., 2012). It was hypothesized that electrical stimulation would stimulate dephosphorylation of these enzymes, increasing their activity and promoting a faster ATP depletion and muscle pH decline.

MEAT AGING

Meat aging result in myofilaments and structural proteins degradation by proteases such as calpain, cathepsins, caspases and proteasome (Kemp et al., 2010). Proteomics and phosphoproteomics have confirmed previous findings and identified new insights on the mechanisms responsible for meat tenderization in response to aging. For example, it was reported that abundance of actin and myosin heavy chain fragments increased in aged pigs muscle, indicating their degradation during aging (Lametsch et al., 2003). The abundance of actin, myosin light chain-1, slow troponin-T and desmin decreased in aged meat, indicating disruption of sarcomere structure during aging (Hwang et al., 2005).

Moreover, aged beef had higher abundance of proteins belonging to cell structures such as membranes or anchoring systems of the cytoskeleton (voltage-dependent anion-selective channel protein-1, vinculin and annexin fragments), suggesting a

degradation of cell structures during meat aging and release of their protein constituent making them more extractable (Laville et al., 2009). In another study, the abundance of troponin T and myosin fragments increased, while the abundance of intact troponin T decreased during beef aging, indicating proteolysis and disruption of myofilaments (Polati et al., 2012). More recently, it was reported that the number of protein spots (fast troponin T, troponin I and myosin heavy chain-1 fragments) increased during beef aging, resulting from myofibril degradation (Marino et al., 2013).

Furthermore, proteomics have been useful to provide a deeper understanding of postmortem proteolysis. A positive correlation was observed between abundance of heat shock protein-27 in fresh muscle and beef tenderness (Morzel et al., 2008). In addition, the abundance of actin fragments increased in aged beef and the largest and smallest fragments of actin were positively correlated with the abundance of heat shock protein-27 in fresh muscle. Taking these findings together and considering the pivotal role of heat shock protein-27 in the organization and maintenance of actin filament integrity, it was proposed that greater abundance of heat shock protein-27 in the muscle immediately after slaughter could prevent protein aggregation, which would facilitate the activity of proteolytic enzymes during beef aging. Additionally, it has also been reported that abundance of capping protein decreased in aged beef (Bjarnadóttir et al., 2010). Because capping protein plays a key role in the control of actin polymerization and uniformity of thin filament lengths interacting with actin and other Z-line-associated proteins, it was proposed that the capping protein degradation would be required for subsequent actin breakdown during beef aging.

The molecular mechanisms responsible for meat tenderization during aging have also gained new insight through phosphoproteomic approaches. A recent study has highlighted the role of apoptosis during beef aging. It was observed that abundance of heat shock protein-B6 decreased in aged beef. As phosphorylated heat shock protein-B6 was also identified by

western blotting and confirmed by mass spectrometry, it was suggested that the decrease in its abundance during aging could promote apoptosis, because heat shock protein-B6 phosphorylation enhances its anti-apoptotic role. In addition, it was also reported that abundance of two $\alpha\beta$ -crystallin spots with the lowest isoelectric point (probably more phosphorylated) increased, while the abundance of other two $\alpha\beta$ -crystallin spots with the highest isoelectric point (probably less phosphorylated) decreased in aged beef. As phosphorylated $\alpha\beta$ -crystallin was also identified by western blotting and confirmed by mass spectrometry, it was proposed that an increase in its phosphorylation level would promote apoptosis during beef aging.

Myofilament phosphorylation has also been reported to be important for meat tenderization. For example, it was observed that myosin light chain-2 doubled their phosphorylated sites from 0 to 24 hours after slaughter, without major changes after 14 days of aging, suggesting that phosphorylation of myosin light chain-2 would play an important role in sarcomere shortening, because its phosphorylation could increase muscle contraction strength and keep it for a longer time (Muroya et al., 2007a).

Moreover, another study showed that phosphorylated troponin T isoforms were detected on 2-DE gels of cattle muscle collected at 1 h after slaughter and beef aged for 1 day, but no troponin T-related polypeptide was detected on 2-DE gels of beef aged for 14 days. (Muroya et al., 2007b) So, it was suggested that this change in troponin T phosphorylation could be due to enzymatic dephosphorylation or cut-off of phosphorylated sites. According to authors, the troponin T phosphorylation sites were expected to be found in the N-terminal region. As the degraded troponin T fragments lacked N-terminal regions and phosphorylated sites, the cut-off of the N-terminal region by proteolysis would be more likely to explain the lack of phosphorylated troponin T fragments on 2-DE gels of beef aged for 14 days. It has been proposed that troponin T phosphorylation enhances its successability to calpain due to a

change in its conformation that causes dissociation in the troponin complex (Di Lisa et al., 1995).

In Nellore beef, the proteomics of beef aging revealed that the creatine kinase M-type was markedly fragmented postmortem, indicating a potential biological marker to estimate days on aging of beef (Silva, 2018). Additionally, this study reported that abundance of phosphorylated PGM1 increased during the first 24 h postmortem and was highly correlated with carcass pH, and that abundance of the phosphorylated myofibrillar proteins ACTA1 and MYLPF were positively correlated with sarcomere shortening, depicting potential markers to evaluate the conversion of muscle to meat (Silva, 2018).

BEEF METABOLOMICS

Besides proteomic evaluation, another interesting tool to detect differences in beef quality is metabolomics, which might be more useful for identification of metabolites related to flavor.

The flavor of meat is related to a mixture of released or transformed compounds during muscle conversion into meat (Meinert et al., 2009), and this transformations increases during aging, causing flavor intensification (Khan et al., 2015). González et al. (2007), found that 7 days of maturation increased the acceptability of beef, but 14 days or 28 days decreased, which can be related to the metabolites formed during aging. Dry-aging or Wet-aging are widely applied to improve beef flavor and texture. Comparing aging treatments, panelists determined higher intensity of off flavor in Wet-aging than Dry-aging (Obuz et al., 2014).

We evaluated the metabolic profile of fresh, Dry- or Wet-aging of cull cows beef and detected differences in 25 metabolites (Estrada et al., in press). Four metabolites had a higher concentration in the fresh/un-aged beef (Glucose, Glucose-6-phosphate, IMP and D-Ribulose-5-phosphate); while four were different between the aging process, in which Melanic acid, Methionine and Putrescine were more abundant in the Wet-aged and Saccharopine was more abundant in Dry-aging. Putrescine is a biogenic amine produced by the decarboxylation of free amino

acids and might be related to the off-flavor in meat after aging process due to microbial activities, that was affected by the aging process.

Kodani et al. (2017) applied metabolomics to predict compositional attributes of beef, such as the total ratio of unsaturated fatty acids, melting point, and found that leucine and creatine were potential biomarkers, positively and negatively correlated with aging duration, respectively.

The beef metabolomics is also very useful to detected beef adulteration in food fraud, since the mixture with other cheaper meats in processed products will cause a prominent change in fatty acid profile (or lipidomic), that can be identified through GC-MS metabolomics. Lipidomic can also be applied to identify the place of origin of the animal, thought typical (Trivedi et al., 2016)

CONCLUSIONS

Meat quality can be affected by several factors. Proteomics and metabolomics studies have provided a broader and deeper understanding of how these factors could contribute to these variations. They have confirmed and elucidated previous concepts and provided new insights into the mechanisms involved in meat quality. For example, differences in myofilaments expressed in fast or slow-twitch fibers can be related to variations between animals, genetic groups, castration and nutrition. Moreover, degradation of myofilaments and structural proteins have shown that proteolysis of actin and myosin can be as important for meat tenderization as degradation of troponin T and desmin. The identification of heat shock proteins related to meat tenderness has been one of the greatest contributions of proteomics to Meat Science, revealing the role of apoptosis for meat tenderization. Phosphoproteomics has shown the post translational effects of individual variation, genetic group and pre-slaughter stress on meat quality are related to differences in phosphorylation of myofilaments and glycolytic enzymes, addressing important post translational modifications of proteins related to its enzymatic activity or its susceptibility to

proteases. Additionally, metabolomics has potential to evaluate multiple beef quality traits such as meat composition and flavor in order to optimize meat quality.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Laboratório de Ciência da Carne (LCC) and Animal Biotechnology Laboratory (LABTEC) of the Universidade Federal de Viçosa for the helpful support during the analyses, protein extraction and quantification. We also thank the Núcleo de Análise de Biomoléculas (NUBIOMOL) of the Universidade Federal de Viçosa for providing facilities and technical support throughout the proteome analysis, and Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG, Grant# APQ-02577-14), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Grants 459912/2014-3 307241/2013-0 and INCT-CA), and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Estágio Sênior #88881.119281/2016-01).

REFERENCES

- Adzitey F and Nurul H, Pale soft exudative (PSE) and dark firm dry (DFD) meats: causes and measures to reduce these incidences-a mini review. *Int Food Res J* 18:11–20 (2011).
- Ande SR, Nguyen KH, Padilla-Meier GP, Wahida W, Nyomba BLG and Mishra S, Prohibitin overexpression in adipocytes induces mitochondrial biogenesis, leads to obesity development, and affects glucose homeostasis in a sex-specific manner, *Diabetes* 63:3734–3741 (2014).
- Bjarnadóttir SG, Hollung K, Færgestad EM and Veiseth-Kent E, Proteome changes in bovine longissimus thoracis muscle during the first 48 h postmortem: shifts in energy status and myofibrillar stability. *J Agric Food Chem* 58:7408–7414 (2010).
- Bjarnadóttir SG, Hollung K, Høy M and Veiseth-Kent E, Proteome changes in the insoluble protein fraction of bovine Longissimus dorsi muscle as a result of low-voltage electrical stimulation. *Meat Sci* 89:143–149 (2011).

- Boccard RL, Naude RT, Cronje DE, Smit MC, Venter HJ and Rossouw EJ, The influence of age, sex and breed of cattle on their muscle characteristics. *Meat Sci* 3:261–280 (1979).
- Canto AC, Suman SP, Nair MN, Li S, Rentfrow G, Beach CM, Silva TJP, Wheeler TL, Shackelford SD, Grayson A, McKeith RO, King DA, Differential abundance of sarcoplasmic proteome explains animal effect on beef Longissimus lumborum color stability. *Meat Sci* 102:90–98 (2015).
- Carvalho ME, Gasparin G, Poleti MD, Rosa AF, Balieiro JCC, Labate CA, Nassu RT, Tullio RR, Regitano LCA, Mourão GB and Coutinho LL, Heat shock and structural proteins associated with meat tenderness in Nellore beef cattle, a *Bos indicus* breed. *Meat Sci* 96:1318–1324 (2014).
- Chen L, Li X, Ni N, Liu Y, Chen L, Wang Z, Shen QW and Zhang D, Phosphorylation of myofibrillar proteins in post-mortem ovine muscle with different tenderness. *J Sci Food Agric* 96:1474–1483 (2016).
- Choi YM and Kim BC, Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality. *Livest Sci* 122:105–118 (2009).
- Cruzen SM, Paulino PV, Lonergan SM and Huff-Lonergan E, Postmortem proteolysis in three muscles from growing and mature beef cattle. *Meat Sci* 96:854–861 (2014).
- D'Alessandro A and Zolla L, Meat science: From proteomics to integrated omics towards system biology. *J Proteomics* 78:558–577 (2013).
- D'Alessandro A, Marrocco C, Rinalducci S, Mirasole C, Failla S and Zolla L, Chianina beef tenderness investigated through integrated Omics. *J Proteomics* 75:4381–4398 (2012).
- D'Alessandro A, Rinalducci S, Marrocco C, Zolla V, Napolitano F and Zolla L. Love me tender: an Omics window on the bovine meat tenderness network. *J Proteomics* 75:4360–4380 (2012).
- Di Lisa F, De Tullio R, Salamino F, Barbato R, Melloni E, Siliprandi N, Schiaffino S and Pontremoli S, Specific degradation of troponin T and I by μ -calpain and its modulation by substrate phosphorylation. *Biochem J* 308:57–61 (1995).
- Feng Y, Ariza ME, Goulet AC, Shi J and Nelson MA, Death-signal-induced relocalization of cyclin-dependent kinase 11 to mitochondria. *Biochem J* 392:65–73 (2005).

- Font-i-Furnols M and Guerrero L, Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. *Meat Sci* 98:361–371 (2014).
- Franco D, Mato A, Salgado FJ, López-Pedrouso M, Carrera M, Bravo S, Parrado M, Gallardo JM and Zapata C, Tackling proteome changes in the longissimus thoracis bovine muscle in response to pre slaughter stress. *J Proteomics* 122:73–85 (2015).
- Gagaoua M, Terlouw EC, Boudjellal A and Picard B, Coherent correlation networks among protein biomarkers of beef tenderness: what they reveal. *J Proteomics* 128:365–374 (2015).
- Gagaoua M, Terlouw EC, Micol D, Boudjellal A, Hocquette JF and Picard B, Understanding early post-mortem biochemical processes underlying meat color and pH decline in the Longissimus thoracis muscle of young blond d'Aquitaine bulls using protein biomarkers. *J Agric Food Chem* 63:6799–6809 (2015).
- Geesink GH, Kuchay S, Chishti AH and Koohmaraie M, μ -Calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins. *J Anim Sci* 84:2834–2840 (2006).
- González, R. A., López, V. J., De Moreno, L. A., Leidenz, H. N., Leal, M., & Pirela, M. F. (2007). Efecto de la suplementación y maduración de carnes al vacío sobre la palatabilidad del longissimus de novillos criollo limonero cebados a pastoreo. *Revista Científica*, XVII(3), 280–287 (2015).
- Guerrero A, Valero MV, Campo MM and Sañudo C, Some factors that affect ruminant meat quality: from the farm to the fork. Review. *Acta Sci Anim Sci* 35:335–347 (2013).
- Guillemin N, Bonnet M, Jurie C and Picard B, Functional analysis of beef tenderness. *J Proteomics* 75:352–365 (2011).
- Guillemin N, Jurie C, Cassar-Malek I, Hocquette JF, Renand G and Picard B. Variations in the abundance of 24 protein biomarkers of beef tenderness according to muscle and animal type. *Animal* 5:885–894 (2011).
- Guillemin NP, Jurie C, Renand G, Hocquette JF, Micol D, Lepetit J and Picard B, Different phenotypic and proteomic markers explain variability of beef tenderness across muscles. *Int J Biol* 4:26–38 (2012).
- Gulyás G, Czeglédi L, Béri B, Harangi S, Csósz E, Szabó Z, Janáky Y and Jávora A, Proteomic analysis of skeletal muscle at different live weights in Charolais bulls. *Acta Aliment* 44:132–138 (2015).

- Gururaj A, Barnes CJ, Vadlamudi RK and Kumar R, Regulation of phosphoglucomutase 1 phosphorylation and activity by a signaling kinase. *Oncogene* 23:8118–8127 (2004).
- Hocquette JF, Botreau R, Picard B, Jacquet A, Pethick DW and Scollan ND, Opportunities for predicting and manipulating beef quality. *Meat Sci* 92:197–209 (2012).
- Hollung K, Grove H, Færgestad EM, Sidhu, MS and Berg P, Comparison of muscle proteome profiles in pure breeds of Norwegian Landrace and Duroc at three different ages. *Meat Sci* 81:487–492 (2009).
- Huang F, Huang M, Zhang H, Guo B, Zhang D and Zhou G, Cleavage of the calpain inhibitor, calpastatin, during postmortem ageing of beef skeletal muscle. *Food Chem* 148:1–6 (2014).
- Huang H and Lametsch R, Application of proteomics for analysis of protein modifications in postmortem meat, in *Proteomics in Foods*, ed. by Toldrá F and Nolle LML. Ed. Springer US, New York, pp. 111–125 (2013).
- Hwang IH, Devine CE and Hopkins DL, The biochemical and physical effects of electrical stimulation on beef and sheep meat tenderness. *Meat Sci*, 65:677–691 (2003).
- Hwang IH, Park BY, Kim JH, Cho SH and Lee JM, Assessment of postmortem proteolysis by gel-based proteome analysis and its relationship to meat quality traits in pig longissimus. *Meat Sci* 69:79–91 (2005).
- Jia X, Veiseth-Kent E, Grove H, Kuziora P, Aass L, Hildrum KI and Hollung K, Peroxiredoxin-6—a potential protein marker for meat tenderness in bovine longissimus thoracis muscle. *J Anim Sci* 87:2391–2399 (2009).
- Kampinga HH, Hageman J, Vos MJ, Kubota H, Tanguay RM, Bruford EA, Cheetham ME, Chen B and Hightower LE, Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress Chaperon* 14:105–111 (2009).
- Kaufman RJ and Malhotra JD, Calcium trafficking integrates endoplasmic reticulum function with mitochondrial bioenergetics. *Biochim Biophys Acta* 1843:2233–2239 (2014).
- Keady SM, Kenny DA, Ohlendieck K, Doyle S, Keane MG and Waters SM, Proteomic profiling of bovine M. longissimus lumborum from Crossbred Aberdeen Angus and Belgian Blue sired steers varying in genetic merit for carcass weight. *J Anim Sci* 91:654–665. (2013).

- Kemp CM, Sensky PL, Bardsley RG, Buttery PJ and Parr T, Tenderness—An enzymatic view. *Meat Sci* 84:248–256 (2010).
- Khan, M. I., Jo, C., & Tariq, M. R. Meat flavor precursors and factors influencing flavor precursors—A systematic review. *Meat Science*, 110, 278–284.
- Kim NK, Cho S, Lee SH, Park HR, Lee CS, Cho YM, Choy YH, Yoon D, Im SK and Park EW, Proteins in longissimus muscle of Korean native cattle and their relationship to meat quality. *Meat Sci* 80:1068–1073 (2008).
- Kim YHB, Lonergan SM, Grubbs JK, Cruzen SM, Fritchman AN, Della Malva A, Marino R and Huff-Lonergan E. Effect of low voltage electrical stimulation on protein and quality changes in bovine muscles during postmortem aging. *Meat Sci* 94:289–296 (2013).
- Kregel KC, Invited review: heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J Appl Physiol* 92:2177–2186 (2002).
- Lametsch R, Karlsson A, Rosenvold K, Andersen HJ, Roepstorff P and Bendixen E, Postmortem proteome changes of porcine muscle related to tenderness. *J Agric Food Chem* 51:6992–6997 (2003).
- Lametsch R, Kristensen L, Larsen MR, Therkildsen M, Oksbjerg N and Ertbjerg P, Changes in the muscle proteome after compensatory growth in pigs. *J Anim Sci* 84:918–924 (2006).
- Lametsch R, Larsen MR, Essén-Gustavsson B, Jensen-Waern M, Lundström K and Lindahl G, Postmortem changes in pork muscle protein phosphorylation in relation to the RN genotype. *J Agric Food Chem* 59:11608–11615 (2011).
- Laville E, Sayd T, Morzel M, Blinet S, Chambon C, Lepetit J, Renand G and Hocquette JF. Proteome changes during meat aging in tough and tender beef suggest the importance of apoptosis and protein solubility for beef aging and tenderization. *J Agric Food Chem* 57:10755–10764 (2009).
- Laville E, Sayd T, Terlouw C, Blinet S, Pinguet J, Fillaut M, Glénisson J and Chérel P, Differences in pig muscle proteome according to HAL genotype: implications for meat quality defects. *J Agric Food Chem* 57:4913–4923 (2009).
- Lee WH, Choi JS, Byun MR, Koo KT, Shin S, Lee SK and Surh YJ, Functional inactivation of triosephosphate isomerase through phosphorylation during etoposide-induced apoptosis in HeLa cells: Potential role of Cdk2. *Toxicology* 278:224–228 (2010).

- Lefaucheur L, A second look into fibre typing–Relation to meat quality. *Meat Sci* 84:257–270 (2010).
- Li CB, Li J, Zhou GH, Lametsch R, Ertbjerg P, Brüggemann DA, Huang HG, Karisson AH, Hvii M and Lundström K, Electrical stimulation affects metabolic enzyme phosphorylation, protease activation, and meat tenderization in beef. *J Anim Sci* 90:1638–1649 (2012).
- Lièvremon JP, Rizzuto R, Hendershot L and Meldolesi J, BiP, a major chaperone protein of the endoplasmic reticulum lumen, plays a direct and important role in the storage of the rapidly exchanging pool of Ca^{2+} . *J Biol Chem* 272:30873–30879 (1997).
- Liu J, He J, Yu J, Mao X, Zheng P, Huang Z, Yu B and Chen D, Birth weight alters the response to postnatal high-fat diet-induced changes in meat quality traits and skeletal muscle proteome of pigs. *Br J Nutr* 111:1738–1747 (2014).
- Lomiwes D, Farouk MM, Wiklund E and Young OA, Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review. *Meat Sci* 96:26–40 (2014).
- Lomiwes D, Hurst SM, Dobbie P, Frost DA, Hurst RD, Young OA and Farouk MM. The protection of bovine skeletal myofibrils from proteolytic damage post mortem by small heat shock proteins. *Meat Sci* 97:548–557 (2014).
- Londono C, Osorio C, Gama V and Alzate O, Mortalin, apoptosis, and neurodegeneration. *Biomolecules* 2:143–164 (2012).
- Loneragan EH, Zhang W and Loneragan SM, Biochemistry of postmortem muscle—Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Sci* 86:184–195 (2010).
- Longo V, Lana A, Bottero MT and Zolla L, Apoptosis in muscle-to-meat aging process: The omic witness. *J Proteomics* 125:29–40 (2015).
- Ma X, Zheng C, Hu Y, Wang L, Yang X and Jiang Z, Dietary L-arginine supplementation affects the skeletal longissimus muscle proteome in finishing pigs. *PloS one*, 10:e0117294 (2015).
- Mann M and Jensen ON, Proteomic analysis of post-translational modifications. *Nat Biotechnol* 21:255–261 (2003).
- Mao Y, Hopkins DL, Zhang Y, Li P, Zhu L, Dong P, Liang R, Dai J, Wang X and Luo X, Beef quality with different intramuscular fat content and proteomic analysis using isobaric tag for relative and absolute quantitation of differentially expressed proteins. *Meat Sci* 118:96–102 (2016).

- Marino R, Albenzio M, Della Malva A, Santillo A, Loizzo P and Sevi A, Proteolytic pattern of myofibrillar protein and meat tenderness as affected by breed and aging time. *Meat Sci* 95:281–287 (2013).
- Marti S, Realini CE, Bach A, Pérez-Juan M and Devant M, Effect of castration and slaughter age on performance, carcass, and meat quality traits of Holstein calves fed a high-concentrate diet. *J Anim Sci* 91:1129–1140 (2013).
- Meinert, L., Schäfer, A., Bjerregaard, C., Aaslyng, M. D., & Bredie, W. L. P. Comparison of glucose, glucose 6-phosphate, ribose, and mannose as flavour precursors in pork; the effect of monosaccharide addition on flavour generation. *Meat Science*, 81(3), 419–425 (2009).
- Morgan JB, Wheeler TL, Koohmaraie M, Crouse JD and Savell JW, Effect of castration on myofibrillar protein turnover, endogenous proteinase activities, and muscle growth in bovine skeletal muscle. *J Anim Sci* 71:408–414 (1993).
- Morgan JB, Wheeler TL, Koohmaraie M, Savell JW and Crouse JD, Meat tenderness and the calpain proteolytic system in Longissimus muscle of young bulls and steers. *J Anim Sci* 71:1471–1476 (1993).
- Morzel M, Terlouw C, Chambon C, Micol D and Picard B, Muscle proteome and meat eating qualities of Longissimus thoracis of “Blonde d’Aquitaine” young bulls: A central role of HSP27 isoforms. *Meat Sci* 78:297–304 (2008).
- Murgiano L, D’Alessandro A, Egidi MG, Crisa A, Prosperini G, Timperio AM, Valentini A and Zolla L, Proteomics and transcriptomics investigation on longissimus muscles in Large White and Casertana pig breeds. *J Proteome Res* 9:6450–6466 (2010).
- Muroya S, Ohnishi-Kameyama M, Oe M, Nakajima I and Chikuni K, Postmortem changes in bovine troponin T isoforms on two-dimensional electrophoretic gel analyzed using mass spectrometry and western blotting: The limited fragmentation into basic polypeptides. *Meat Sci* 75:506–514 (2007).
- Muroya S, Ohnishi-Kameyama M, Oe M, Nakajima I, Shibata M and Chikuni K, Double phosphorylation of the myosin regulatory light chain during rigor mortis of bovine longissimus muscle. *J Agric Food Chem* 55:3998–4004 (2007).
- Obuz, E., Akkaya, L., Gök, V., & Dikeman, M. E. Effects of blade tenderization, aging method and aging time on meat quality characteristics of Longissimus lumborum steaks from cull Holstein cows. *Meat Science*, 96(3), 1227–1232 (2014).

- Ohsaki H, Okada M, Sasazaki S, Hinenoya T, Sawa T, Iwanaga S, Tsuruta H, Mukai F and Mannen H, Proteomic comparison between Japanese black and holstein cattle by two-dimensional gel electrophoresis and identification of proteins. *Asian-Aust J Anim Sci* 20:638–644 (2007).
- Oliván M, Fernández-Suárez V, Díaz-Martínez F, Sierra V, Coto-Montes A, Luxán-Delgado B, Peña R, Bassols A, Fàbrega E, Dalmau A and Velarde A, Identification of Biomarkers of Stress in Meat of Pigs Managed under Different Mixing Treatments. *Br Biotechnol J* 11:1–13 (2016).
- Ouali A, Gagaoua M, Boudida Y, Becila S, Boudjellal A, Herrera-Mendez CH and Sentandreu MA, Biomarkers of meat tenderness: present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved. *Meat Sci* 95:854–870 (2013).
- Ouali A, Herrera-Mendez CH, Coulis G, Becila S, Boudjellal A, Aubry L and Sentandreu MA, Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Sci* 74:44–58 (2006).
- Ozaki T, Yamashita T and Ishiguro SI, Ca²⁺-induced release of mitochondrial m-calpain from outer membrane with binding of calpain small subunit and Grp75. *Arch Biochem Biophys* 507:254–261 (2011).
- Picard B, Berri C, Lefaucheur L, Molette C, Sayd T and Terlouw C, Skeletal muscle proteomics in livestock production. *Brief Funct Genomics* 9:259–278 (2010).
- Picard B, Gagaoua M, Micol D, Cassar-Malek I, Hocquette JF and Terlouw CE, Inverse relationships between biomarkers and beef tenderness according to contractile and metabolic properties of the muscle. *J Agric Food Chem* 62:9808–9818 (2014).
- Picard B, Lebret B, Cassar-Malek I, Liaubet L, Berri C, Le Bihan-Duval E, Hocquette JF, Renand G, Recent advances in omic technologies for meat quality management. *Meat Sci* 109: 18–26 (2015).
- Pires VMR, Madeira MS, Dowle AA, Thomas J, Almeida AM and Prates JAM, Increased intramuscular fat induced by reduced dietary protein in finishing pigs: effects on the longissimus lumborum muscle proteome. *Mol Biosyst* 12:2447–2457 (2016).
- Polati R, Menini M, Robotti E, Million R, Marengo E, Novelli E, Balzan S and Cecconi D. Proteomic changes involved in tenderization of bovine Longissimus dorsi muscle during prolonged ageing. *Food Chem* 135:2052–2069 (2012).

- Pulford DJ, Dobbie P, Vazquez SF, Fraser-Smith E, Frost DA and Morris CA, Variation in bull beef quality due to ultimate muscle pH is correlated to endopeptidase and small heat shock protein levels. *Meat Sci* 83:1–9 (2009).
- Purslow PP, Archile-Contreras AC and Cha MC, Meat Science and Muscle Biology Symposium: Manipulating meat tenderness by increasing the turnover of intramuscular connective tissue. *J Anim Sci* 90:950–959 (2012).
- Rodrigues RTS, Chizzotti ML, Vital CE, Baracat-Pereira MC, Barros E, Busato KC, Gomes RA, Ladeira MM and Martins TS, Differences in beef quality between Angus (*Bos taurus taurus*) and Nellore (*Bos taurus indicus*) Cattle through a proteomic and phosphoproteomic approach. *PloS one*, 12:e0170294 (2017).
- Ryder JW, Lau KS, Kamm KE and Stull JT, Enhanced skeletal muscle contraction with myosin light chain phosphorylation by a calmodulin-sensing kinase. *J Biol Chem* 282:20447–20454 (2007).
- Sayd T, Morzel M, Chambon C, Franck M, Figwer P, Larzul C, Le Roy P, Monin G, Chérel P and Laville E, Proteome analysis of the sarcoplasmic fraction of pig semimembranosus muscle: implications on meat color development. *J Agric Food Chem* 54:2732–2737 (2006).
- Schreurs NM, Garcia F, Jurie C, Agabriel J, Micol D, Bauchart D, Listrat A and Picard B, Meta-analysis of the effect of animal maturity on muscle characteristics in different muscles, breeds, and sexes of cattle. *J Anim Sci* 86:2872–2887 (2008).
- Shen J, Li N, Mao Y, Zhang Y and Luo X, Protein changes in Longissimus dorsi muscle of Chinese Yellow. *J Anim Vet Adv* 11:2301–2306 (2012).
- Shibata M, Matsumoto K, Oe M, Ohnishi-Kameyama M, Ojima K, Nakajima I, Muroya S and Chikuni K. Differential expression of the skeletal muscle proteome in grazed cattle. *J Anim Sci* 87:2700–2708 (2009).
- Silva, Luiz Henrique Pereira. Effect of castration and maturity on body glucose sensitivity, carcass composition, meat quality traits and muscle proteome and phosphoproteome of Nellore male cattle. PhD thesis, Univerisdade Federal de Viçosa, 2018.
- Trivedi D K, K A Hollywood, N.J. W. Rattray, et al.. Meat, the metabolites: an integrated metabolite profiling and lipidomics approach for the detection of the adulteration of beef with pork. *Analyst*, 141, 2155-2164 (2016)

- Troy DJ and Kerry JP, Consumer perception and the role of science in the meat industry. *Meat Sci* 86:214–226 (2010).
- Whipple G, Koohmaraie M, Dikeman ME, Crouse JD, Hunt MC and Klemm RD, Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. *J Anim Sci* 68:2716–2728 (1990).
- Xu YJ, Jin ML, Wang LJ, Zhang AD, Zuo B, Xu DQ, Ren ZQ, Lei MG, Mo XY, Li FE, Zheng R, Deng CY and Xiong YZ, Differential proteome analysis of porcine skeletal muscles between Meishan and Large White. *J Anim Sci* 87:2519–2527 (2009).
- Yoshinori Kodani, Takuya Miyakawa, Tomohiko Komatsu & Masaru Tanokura. NMR-based metabolomics for simultaneously evaluating multiple determinants of primary beef quality in Japanese Black cattle. Scientific Reports volume 7, Article number: 1297 (2017).
- Zhang Q, Lee HG, Han JA, Kang SK, Lee NK, Baik M and Choi YJ, Differentially expressed proteins associated with myogenesis and adipogenesis in skeletal muscle and adipose tissue between bulls and steers. *Mol Biol Rep* 39:953–960 (2012).
- Zhong W, Jiang Z, Zheng C, Lin Y, Yang L and Zou S, Relationship between proteome changes of Longissimus muscle and intramuscular fat content in finishing pigs fed conjugated linoleic acid. *Br J Nutr* 105:1–9 (2011).

NUTRIGENOMIC AND BEEF MARBLING

M. M. Ladeira^{1§}, M. P. Gionbelli¹, L. M. Rodrigues¹, P. D. Teixeira¹

¹Department of Animal Science, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil, 37.200-000; [§] Corresponding author: Márcio Machado Ladeira. E-mail: mladeira@dzo.ufla.br

INTRODUCTION

Among alternatives to improve muscle fatty acid profile, different sources of unsaturated fatty acids has been used in ruminant diets (Ladeira *et al.*, 2016). However, in some studies, it was found that different fatty acids sources in diets may result in lesser (Schoonmaker *et al.*, 2010; Duckett *et al.*, 2014) or greater (Cooke *et al.*, 2011; Mangrum *et al.*, 2016) intramuscular fat content. Marbling is a key factor for the production of high quality meat in some markets, such as United States, Japan and Brazil. Therefore, it is essential to know if different lipid sources and their fatty acids can modulate the expression of genes responsible to encode enzymes involved in muscle lipogenesis. For this reason, research in nutrigenomics has become important and began to be conducted during the last 10 years, and one of the objective of this review will be to present the main results on this topic.

In addition, the process of muscular development and adipogenesis begin during the fetal phase and may be responsible for long-term influence in growth and meat quality. Therefore, it is also necessary to look at the effect of mother nutrition on offspring metabolism and gene expression regulation. This effect is known as “fetal programming” and in the last decade, several papers were published in this area. There is evidence that undernourished cows produce calves susceptible to dead, diseases and impaired growth (Wu *et al.*, 2006). However, the way mother’s nutrition affects offspring is complex and have different patterns.

FETAL PROGRAMMING AND BEEF MARBLING

Fetal programming may have a direct effect on progeny development or even have a transgenerational effect, transmitting a genetic inheritance to generations that were not exposed to the initial signal (Heard *et al.*, 2014). This happens through the epigenetics and may affect meat quality since several organoleptic characteristics are dependent of metabolic process in the live animal and *post-mortem*.

Epigenetics effects

Epigenetics is a study of parental inheritance factors that modify gene expression without altering the base sequences of the DNA. It can act as a key mechanism that allows phenotypic plasticity regarding fixed genotype (Funston *et al.*, 2013; Heard *et al.*, 2014;). The most common mechanisms in epigenetics are DNA methylation, histone modification, and noncoding microRNAs. These mechanisms promote alterations in chromatin structure and regulate timing and intensity of gene expression allowing those changes to pass through generations (Goldberg *et al.* 2007).

DNA methylation is a common process, and many regions rich in CpG dinucleotides in the 5'-3' direction contain methylation. However, the CpG islands in promoter regions are usually unmethylated, and methyl group adhesion in these regions may interfere with gene expression. Methylation patterns vary according to the tissue and process occurs through the activation of DNA methyltransferase (DNMT) using S-adenosylmethionine (SAM) as a methyl group donor (Jones and Liang, 2009). Thus, the diet is able to alter this process by regulating the methyl group availability or by altering the activity of enzymes involved in the methylation process, more specifically the DNMT.

Within the nucleus, DNA is wrapped in a globular octet envelope with two copies of each nucleus of histones (H3, H4, H2A, H2B). The histone tail that emerges from this globular heart fold is susceptible to great variation in the form of post transcriptional

modifications of specific residues of amino acids (Kouzarides, 2007). In addition, there are more than hundreds different histone transcriptional modifications, such as acetylation, ubiquitination, phosphorylation etc. (McKay and Mathers, 2011; Funston *et al.*, 2013).

Due to the variety of possible histone modifications, there are several ways when diet can affect it and its interaction with the DNA. In general, according to McKay and Mathers (2011), there are two ways to be affected by diet: by altering amount and/or enzymatic response efficiency to the modification, or by altering substrate availability for the enzymes. Because histone modifications and DNA methylation play a role in transcriptional regulation, nutritional factors that alter one process have the ability to change the other as well.

MicroRNAs are vital components in gene control; they are involved in several important biological events such as cell proliferation and differentiation, development, regulation of the nervous system and formation of tumors. Furthermore, targets of microRNAs (miRNAs) include transcription factors, secreted factors, receptors, transporters and signaling proteins (Barrett *et al.*, 2013). Several dietary and nutritional factors can change miRNAs expression. However, due to the complexity and variation of these structures, the way this occurs is still poorly known. The miRNAs are small non-coding RNA and its action occurs by binding to 3' UTR regions of the target mRNA, suppressing expression and affecting stability and/or leading to degradation (McKay and Mathers, 2011).

Therefore, a combination of these 3 epigenetic mechanisms: DNA methylation, histone modifications, and miRNAs are responsible for controlling genetic expression, maintaining a robust combination that allows this regulation to be passed from one generation to another. The way that epigenetics works with a nutritional stimuli was simplified and described by Mathers (2008) and is called as 4Rs of nutritional epigenomes. First, the animal RECEIVED a nutritional stimuli and it's RECORDED by the

genome. Then these exposures are REMEMBERED by following cell generations and finally is REVEALED in changed gene expression, cell function, and overall health.

How mother nutrition affect offspring marbling

Muscle and adipocytes in utero development are important for ultimate quantity and quality of meat produced. Nutrient restriction or excess during fetal and neonatal development can have long-term consequences on meat quantity and quality, particularly if they occur during critical periods of muscle and adipose development. Primary muscle fibers form in the fetal stage starting at 2 months of gestation and secondary muscle fibers form from 2 to 8 months of gestation in cattle (Russell and Oteruelo, 1981; Du *et al.*, 2010). Development of adipocytes starts in early gestation (Symonds *et al.*, 2007), and approximately 80% of fetal adipogenesis occurs in the final few weeks of gestation. Adipocyte hyperplasia occurs primarily during late fetal development and early postnatal life in cattle (Zhu *et al.*, 2008). Although preadipocytes can proliferate and differentiate in adults, their capacity appears to be limited to the developmental stage in early life (Martin *et al.*, 1998).

During cell division, nutrients availability may affect metabolism to adapt to a poor environment, and this metabolic changes results in changes in fat deposition and muscle mass in the progeny (Bonasio *et al.*, 2010; Blair *et al.*, 2013). In this case, muscle biological properties may affect meat quality and yield, by a number of myofibers, myofiber size or type of myofibers (Bi and Kuang, 2012). Oxidative and glycolytic fibers ratio can be affected by diet (Vestergaard *et al.*, 2000), and intramuscular glycogen content, as well as glycolysis rate after slaughter, affect lactic acid production, pH, and water holding capacity. Likewise, intramuscular fat may be oxidized *post-mortem* and resulting in oxidation of muscle components such as oxymyoglobin and changes meat color and taste (Wu *et al.*, 2006).

The reason why mother nutrition can change cell tissues proliferation is that mesenchymal stem cells (MSC) originate muscle

and adipose tissues by the action of transcription factors, regulating the involvement and differentiation of these cells and muscle composition (Du *et al.*, 2010). Transcription factors can act in different ways, according to the concentrations, cell-to-cell interactions, and extra cellular matrix (Ladeira *et al.*, 2016).

The main transcription factor for MSC differentiation is *Wnt* (Wingless and Int) signaling. According to Du *et al.* (2010), *Wnt* signaling induce proliferation, differentiation or maintenance of cellular precursors in an autocrine or paracrine manner. *Wnt* pathway is dependent on β -Catenin signaling. *Wnt* signaling pathway increases myogenesis and reduces adipogenesis in skeletal muscle, regulating body fat and reducing obesity susceptibility. Therefore, it is possible that a good maternal nutrition during gestation will increase *Wnt* signaling pathway, promoting more myogenesis at the beginning and middle (Du *et al.*, 2010). Then, during late gestation, after a satisfactory myogenesis, *Wnt* signal could be inhibited to increase adipogenesis.

Wnt expression is regulated by the availability of methyl donor grouping such as folic acid, vitamin B12, choline and betaine that comes from diet. According to Tong *et al.* (2009) and Yan *et al.* (2012) maternal over nutrition during pregnancy impairs myogenesis and elevates adipogenesis, which is partially explained by down regulation of the *Wnt* signaling pathway. Likewise, the maternal restriction may increase visceral adipogenesis (Wang *et al.*, 2016).

On the other hand, *Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma* (*PPAR γ*) is a primary regulator of lipid metabolism and insulin sensibility (Bionaz *et al.*, 2013). *PPAR γ* and *C/EBP α* act together on adipocytes differentiation as pleiotropic transcriptional activators of a large group of genes that produce the adipocyte phenotype (Del Pino *et al.*, 2017). *PPAR γ* is important for meat production due to its relation with intra-muscular fat and its effect on marbling (Bionaz *et al.*, 2013) and can be used as a cell marker of muscle and adipose tissue growth (Du *et al.*, 2015).

Other genes and transcription factors are also involved in adipogenic metabolism. *FABP4* is a lipid transporter and have a low expression at the beginning of lipogenesis and increases with the differentiation process of pre-adipocytes (Hausman *et al.*, 2014). The higher *FABP4* expression may be an indicator of the number of adipocytes within the muscle tissue, which implies a greater number of adipocytes, although smaller ones (Del Pino *et al.*, 2017). The transcriptional factor *ZFP423* stimulates expression of *PPAR γ* . Yang *et al.* (2013) observed that maternal obesity reduces DNA methylation in the promoters regions of *ZFP423* and adipogenic progenitors in mice fetuses. This DNA methylation is relatively stable and increases the expression of *ZFP423* inducing progeny to premature adipogenic differentiation in adipose tissue (Liang *et al.*, 2016).

Growth factors, such as the IGF system, also influence the proliferation and differentiation of cells in myogenesis process. IGF-I and IGF-II are endocrine, autocrine and paracrine growth factors and have several effects including erythropoiesis, anabolism, cell growth, cell differentiation and satellite cell proliferation. IGF-I is one of the majors regulators of myogenesis, stimulating differentiation by induction of *myogenin* expression. Therefore, nutritional status is an important systemic modulator of IGF-I in pre and post-natal. Maternal nutrition during early and middle gestation can affect glucose metabolism and glucose exchange, causing sensitivity to IGF-I (Du *et al.*, 2015). Gonzalez *et al.* (2013) observed a reduction in blood concentrations of IGF-I and IGF-II of calves whose mothers received a diet with nutritional restriction, decreasing myogenic cells proliferation and, consequently, negatively interference in muscle fibers formation. However, once nutrient intake is restored, animals lead to produce more adiposity. But damage in muscle development cannot be restored, causing obese animals.

Mamalian target of Rapamycin (mTOR) is another pathway that regulates metabolism and cell proliferation. Several processes such as adipogenesis and insulin resistance activate mTOR and

promote cell growth and proliferation through promoting anabolic process and limiting anabolism (Laplanche *et al.*, 2009).

In this case, after birth and until 250 days of life, there is still formation of adipose cells, but after this period efficiency of dietary manipulation is conditioned to the hypertrophy of the existing adipocytes.

Although the way maternal nutrition affects gene expression and fetal development is not totally clear, Du *et al.* (2010) suggested that fetal phase is the best time for manipulation of the diet in order to increase meat production because at this moment there is an abundance of multipotent cells and the provision of nutrients readily available from maternal diet (Du *et al.*, 2010). Besides, maternal nutrition and metabolism affect nutrient supply in the fetus and it may alter their metabolism by reducing availability of methyl donors and specific amino acids groups involved in DNA methylation and histone modifications (Funston *et al.*, 2013; Paradis *et al.*, 2017).

NUTRIGENOMIC AND INTRAMUSCULAR SYNTHESIS DURING FINISHING PHASE

The main factor that control the degree of marbling is the animal's nutrition status, and therefore, for more intramuscular fat deposit is necessary that energy consumed must be high to be stored in adipose tissue. Early studies demonstrated that acetate and glucose are the major precursors used for biosynthesis of fatty acids in ruminants, where glucose is responsible for approximately 70% of the supply of acetyl necessary for the synthesis, whereas acetate contributes with 20% (Smith and Crouse, 1984, May *et al.*, 1995). Corroborating with these authors Chung *et al.* (2007) found that animals fed corn-based diet over a long period showed a decline in fatty acid biosynthesis from the acetate of approximately 75% in the subcutaneous and intramuscular adipose tissues. With the decline in acetate production, glucose plays a very important role as a carbon donor source for the *de novo* synthesis of fatty acids. This effect is more sensitive in the intramuscular tissue since in the subcutaneous tissue the rate of incorporation of acetate and

glucose in the fatty acid synthesis is similar. However, in intramuscular tissue, the rate of glucose uptake in fatty acids is twice as high as the acetate incorporation rate.

So, the size of intramuscular fat (IMF) depot results from lipogenesis, fatty acid transport and lipolysis in muscle tissue (Gondret and Hocquette, 2006), and they are regulated by metabolic enzymes and controlled by functional genes in the muscle tissue (Zhang *et al.*, 2014).

Therefore, besides lipogenesis, the amount of intramuscular fat (IMF) depot results also from fatty acid transport and lipolysis in muscle tissue (Gondret and Hocquette, 2006). To occur muscle uptake, triglycerides from the small intestine, after diet fatty acid absorption, need to be carried by chylomicrons and then undergo action of the lipoprotein lipase (LPL) and fatty acid-binding protein 4 (FABP4) (Jurie *et al.*, 2007).

Considering lipogenesis, the *de novo* fatty acid synthesis occurs by the carboxylation of acetyl-CoA through the action of the acetyl-CoA carboxylase (which is encoded by the gene *ACACA*) and next, through the action of the fatty acid synthase (*FASN*) (Ladeira *et al.*, 2016). Following their synthesis or uptake by adipocytes, fatty acids might be exposed to the action of the enzyme stearoyl-CoA desaturase (*SCD1*), inserting double bounds in the chain. During lipolysis, FA needs to be oxidized into the mitochondrial via carnitine palmitoyl transferase enzyme (Bionaz *et al.*, 2012). Inside mitochondria, *CPT2* converts the long-chain acylcarnitine back to long-chain acyl-CoA, and then long-chain acyl-CoA enters β -oxidation pathway (Adami *et al.*, 2006).

Therefore, greater IMF deposition is associated with increasing lipogenesis, fatty acid uptake, and decreasing lipolysis (Baik *et al.*, 2017). Corroborating this assertion, Teixeira *et al.* (2017) reported that Nellore bulls fed ground corn had greater expression of genes related to synthesis (*ACACA* and *SCD*), absorption (*FABP4* and *LPL*) and degradation (*CPT2*), characterizing greater lipid turnover in these animals, which could be responsible for less IMF. According to Knutson *et al.* (2017),

intramuscular fat deposition is more complex than subcutaneous fat in beef cattle; it is affected by the genetic propensity to marble, nutritional plane throughout life, animal weight, age and environmental factors.

Duarte *et al.* (2013) studying Wagyu and Angus, found that Wagyu had more IMF, and more expression of *Zfp423*, which induced adipogenesis and the upregulation of *PPARG*. Bong *et al.* (2012), comparing gene expression in bulls and steers, found that steers have greater expression of lipogenic genes (*ACACA*, *FASN*), lipid uptake (*LPL*, *CD36*, *FATP1*) and less lipolytic (*adipose triglyceride lipase* or official name: *patatin like phospholipase domain containing 2 - PNPLA2*). Therefore, steers had less lipid turnover, resulting in high marbling muscles (11.0 and 3.0%). These results are supported by positive correlations between IMF and *ACACA*, *FASN*, *LPL*, *CD36*, *FATP1* and negative correlation with *PNPLA2* (Jeong *et al.*, 2012).

According to Gilbert *et al.* (2003), diets with high energy are also responsible for the production of meat with high marbling degree. However, Teixeira *et al.* (2017) reported that bulls fed a diet with whole shelled corn and no forage did not increase intramuscular fat because this diet reduced rumen pH and increased C18:2 *trans*-10, *cis*-12, which reduced *SREBF1* expression. In this sense, SREBP-1c is an important transcription factor regulating lipogenesis, having a positive correlation with expression of *ACACA* (Oliveira *et al.*, 2014) and *SCD* (Waters *et al.*, 2009).

In other studies, Cooke *et al.* (2011) and Mangrum *et al.* (2016), reported that animals receiving rumen undegradable unsaturated fatty acid, that contained a high percentage of oleic and linoleic acid, had greater intramuscular fat and marbling scores. On the other hand, Schoonmaker *et al.* (2010), showed that animals fed wet distillers grains (rich in PUFA) decreased marbling score. Therefore, more studies are necessary to understand the effects of specific fatty acids and their isomers on lipogenesis, fatty acid uptake, and lipolysis which will affect meat intramuscular fat.

Interactions between nutrients from the diet and expression of genes involved in lipid metabolism have many possibilities regarding the deposition of fatty acids in the muscle and beef quality for human consumption. Diets rich in PUFA are important for the regulation of SCD1 expression in the muscle of beef cattle, altering fatty acid profile in beef (Waters et al., 2009). Furthermore, Herdmann et al. (2010) reported that animals fed greater ω 3 PUFA content on the diet have less SCD1 expression and thus, less CLA cis-9, trans-11 and oleic acid on muscle. Ladeira et al. (2014) also demonstrated an increase of CLA concentration in the muscle of animals fed soybean compared to those fed rumen-protected fat, and this result may be due to the greater gene expression of SCD1 in the muscle (Oliveira et al., 2014).

Other researchers reported that feeding of diets high in saturated fatty acids to pigs (Smith et al., 1999), high energy grain diets to finishing cattle (Duckett et al., 2009), or high carbohydrate diets in mice (Flowers & Ntambi, 2009) significantly up-regulates SCD1 expression in adipose tissues and increases adipose deposition.

FINAL CONSIDERATIONS

Definitely, gene expression is a metabolic factor affecting marbling in beef cattle and its regulation start during fetal phase and remaining until feedlot. However, it is necessary to understand better this complex mechanism discovering how specific fatty acids and other nutrients act on the transcription factors or directly on DNA.

REFERENCES

- Adami F, Nakamura FY, de-Oliveira FR and da Silva Gevaerd M 2006. Metabolismo de gordura durante o exercício físico: mecanismos de regulação. *Rev. Bras. Cineantropom. Desempenho Hum* 8, 106-114.
- Aiken, C. E.; Ozanne, S. E. 2014. Transgenerational developmental programming. *Human Reproduction Update*, v. 20, n. 1, p. 63–75.
- Baik M, Kang HJ, Park SJ, Na SW, Piao M, Kim SY, Fassah DM and Moon YS 2017. TRIENNIAL GROWTH AND DEVELOPMENT SYMPOSIUM: Molecular mechanisms related to bovine intramuscular fat deposition in the longissimus muscle12. *Journal of Animal Science* 95, 2284-2303
- Barrett, L. D., S. Fletcher, and S. D. Wilton. 2013. Untranslated Gene Regions and Other Non-coding Elements Regulation of Eukaryotic Gene Expression. 1st ed. Springer, The University of Western Australia.
- Bi, P., and S. Kuang. 2012. Meat Science and Muscle Biology Symposium: Stem cell niche and postnatal muscle growth. *J. Anim. Sci.* 90:924–935. doi:10.2527/jas.2011-4594.
- Bionaz M, Chen S, Khan MJ and Loor JJ 2013. Functional Role of PPARs in Ruminants: Potential Targets for Fine-Tuning Metabolism during Growth and Lactation. *PPAR Research*, 28 pags.
- Bionaz M, Thering BJ and Loor JJ 2012. Fine metabolic regulation in ruminants via nutrient–gene interactions: saturated long-chain fatty acids increase expression of genes involved in lipid metabolism and immune response partly through PPAR- α activation. *British Journal of Nutrition* 107, 179-191.
- Blair, A. D., A. R. Mohrhauser, A. R. Taylor, K. R. Underwood, R. H. Pritchard, and A.E. Wertz-Lutz. 2013. Pregnant cow nutrition: effect on progeny carcass and meat characteristics. In: *The Range Beef Cow Symposium XXIII*, Rapid City, South Dakota.
- Bonasio, R.; TU, S.; Reinberg, D. 2010. Molecular Signal of Epigenetic States. *Science*, v. 330, n. 6004, p. 612–616.
- Bong JJ, Jeong JY, Rajasekar P, Cho YM, Kwon EG, Kim HC, Paek BH and Baik M 2012. Differential expression of genes associated with lipid metabolism in longissimus dorsi of Korean bulls and steers. *Meat Science* 91, 284-293.

- Cooke RF, Bohnert DW, Moriel P, Hess BW and Mills RR 2011. Effects of polyunsaturated fatty acid supplementation on ruminal in situ forage degradability, performance, and physiological responses of feeder cattle1. *Journal of Animal Science* 89, 3677-3689.
- Chung K, Lunt D, Kawachi H, Yano H and Smith S 2007. Lipogenesis and stearoyl-CoA desaturase gene expression and enzyme activity in adipose tissue of short-and long-fed Angus and Wagyu steers fed corn-or hay-based diets. *Journal of Animal Science* 85, 380-387
- Del Pino, L. M., A. Arana, L. Alfonso, J. A. Mendizábal, and B. Soret. 2017. Adiposity and adipogenic gene expression in four different muscles in beef cattle. *PLoS One*. 12:1–19. doi:10.1371/journal.pone.0179604.
- Du M., J. Tong , J. Zhao, K. R. Underwood, M. Zhu, S. P. Ford, and P. W. Nathanielsz. 2010. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. *J. Animal Science* 88(13 Suppl):E51-60.
- Du, M., B. Wang, X. Fu, Q. Yang, and M. J. Zhu. 2015. Fetal programming in meat production. *Meat Sci*. 109:40–47. doi:10.1016/j.meatsci.2015.04.010.
- Duarte MS, Paulino PVR, Das AK, Wei S, Serão NVL, Fu X, Harris SM, Dodson MV and Du M 2013. Enhancement of adipogenesis and fibrogenesis in skeletal muscle of Wagyu compared with Angus cattle. *Journal of Animal Science* 91, 2938-2946.
- Funston, R. N.; Summers, A. F. 2013. Epigenetics: Setting Up Lifetime Production of Beef Cows by Managing Nutrition. *Annual Review of Animal Biosciences*. v. 1, p. 339–363
- Gilbert CD, Lunt DK, Miller RK and Smith SB 2003. Carcass, sensory, and adipose tissue traits of Brangus steers fed casein-formaldehyde-protected starch and/or canola lipid. *Journal of Animal Science* 81, 2457-2468.
- Goldberg AD, Allis CD, Bernstein E. Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell* 2007; 4:635–638
- Gondret F and Hocquette J-F 2006. La teneur en lipides de la viande: une balance métabolique complexe. *INRA Prod. Anim.* 19, 327-338.
- Gonzalez, J. M., L. E. Camacho, S. M. Ebarb, K. C. Swanson, K. A. Vonnahme, A. M. Stelzleni, and S. E. Johnson. 2013. Realimentation of nutrient restricted pregnant beef cows supports compensatory fetal muscle growth. *J. Anim. Sci.* 91:4797–4806. doi:10.2527/jas.2013-6704

- Hausman, G. J., U. Basu, S. Wei, D. B. Hausman, and M. V. Dodson. 2014. Preadipocyte and Adipose Tissue Differentiation in Meat Animals: Influence of Species and Anatomical Location. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 2:323–351. doi:10.1146/annurev-animal-022513-114211.
- Heard E and Martienssen Robert A. 2014. Transgenerational Epigenetic Inheritance: Myths and Mechanisms. *Cell* 157, 95-109
- Jeong J, Kwon EG, Im SK, Seo KS and Baik M 2012. Expression of fat deposition and fat removal genes is associated with intramuscular fat content in longissimus dorsi muscle of Korean cattle steers¹. *Journal of Animal Science* 90, 2044-2053
- Jones, P.A. & Liang, G. 2009. Rethinking how DNA methylation patterns are maintained. *Nat Rev Genet* 10, 805–811.
- Jurie, C., Cassar-Malek, I., Bonnet, M., Leroux, C., Bauchart, D., Boulesteix, P., Hocquette, J. F. (2007). Adipocyte fatty acid-binding protein and mitochondrial enzyme activities in muscles as relevant indicators of marbling in cattle. *Journal Animal Science*, 85, 2660-2669. doi: 10.2527/jas.2006-837
- Knutson EE, Sun X, Fontoura ABP, Gaspers J, Liu JH, Carlin KR, Bauer ML, Swanson KC and Ward AK 2017. Effect of a low vitamin A diet on marbling and carcass characteristics of Angus cross and Simmental steers¹. *Translational Animal Science* 1, 90-94.
- Kouzarides, T. 2007. Chromatin Modifications and Their Function. *Cell*. 128:693–705. doi:10.1016/j.cell.2007.02.005.
- Ladeira M, Schoonmaker J, Gionbelli M, Dias J, Gionbelli T, Carvalho J and Teixeira P 2016. Nutrigenomics and Beef Quality: A Review about Lipogenesis. *International Journal of Molecular Sciences* 17, 918.
- Laplane, M., and M. David. 2009. mTOR signaling at a glance. doi:10.1242/jcs.051011.
- Liang X, Yang Q, Fu X, Rogers CJ, Wang B, Pan H, Zhu MJ, Nathanielsz PW & Du M. 2016. Maternal obesity epigenetically alters visceral fat progenitor cell properties in male offspring mice. *Journal of Physiology* 594, 4453-4466.
- Mangrum KS, Tuttle G, Duckett SK, Sell GS, Krehbiel CR and Long NM 2016. The effect of supplementing rumen undegradable unsaturated fatty acids on marbling in early-weaned steers¹. *Journal of Animal Science* 94, 833-844.

- Martin, R. J., G. J. Hausman, and D. B. Hausman. 1998. Regulation of adipose cell development in utero. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 219: 200-210.
- Mathers JC 2008. Session 2: Personalised nutrition Epigenomics: a basis for understanding individual differences? *Proceedings of the Nutrition Society* 67, 390-394.
- Mckay, J. A., and J. C. Mathers. 2011. Diet induced epigenetic changes and their implications for health. *Acta Physiol*. 202:103–118. doi:10.1111/j.1748-1716.2011.02278.x.
- Oliveira DM, Chalfun-Junior A, Chizzotti ML, Barreto HG, Coelho TC, Paiva LV, Coelho CP, Teixeira PD, Schoonmaker JP and Ladeira MM 2014. Expression of genes involved in lipid metabolism in the muscle of beef cattle fed soybean or rumen-protected fat, with or without monensin supplementation. *J. Anim Sci*.
- Paradis, F., Wood, K. M., Swanson, K. C., Miller, S. P., McBride, B. W., & Fitzsimmons, C. 2017. Maternal nutrient restriction in mid-to-late gestation influences fetal mRNA expression in muscle tissues in beef cattle. *BMC Genomics*, 18(1), 632.
- Russell, R. G., and F. T. Oteruelo. 1981. An ultrastructural study of the differentiation of skeletal muscle in the bovine fetus. *Anat. Embryol. (Berl)* 162: 403-417.
- Schoonmaker JP, Trenkle AH and Beitz DC 2010. Effect of feeding wet distillers grains on performance, marbling deposition, and fatty acid content of beef from steers fed low- or high-forage diets¹. *Journal of Animal Science* 88, 3657-3665.
- Smith SB and Crouse JD 1984. Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. *The Journal of nutrition* 114, 792-800.
- Symonds, M. E., T. Stephenson, D. S. Gardner, and H. Budge. 2007. Long-term effects of nutritional programming of the embryo and fetus: mechanisms and critical windows. *Reproduction, Fertility and Development*. 19:53-63.
- Teixeira PD, Oliveira DM, Chizzotti ML, Chalfun-Junior A, Coelho TC, Gionbelli M, Paiva LV, Carvalho JRR and Ladeira MM 2017. Subspecies and diet affect the expression of genes involved in lipid metabolism and chemical composition of muscle in beef cattle. *Meat Science* 133, 110-118.

- Tong, J. F., X. Yan, M. J. Zhu, S. P. Ford, P. W. Nathanielsz, and M. Du. 2009. Maternal obesity downregulates myogenesis and B-catenin signaling in fetal skeletal muscle. 82071:917–924. doi:10.1152/ajpendo.90924.2008.
- Vestergaard, M., M. Therkildsen, P. Henckel, and L. R. Jensen. 2000. Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on muscle fibre characteristics and meat colour of semitendinosus, longissimus dorsi and supraspinatus muscle of young bulls. *Meat Sci.* 54:177–185.
- Wang, B., Yang, Q., Harris, C. L., Nelson, M. L., Busboom, J. R., Zhu, M. J., & Du, M. 2016. Nutrigenomic regulation of adipose tissue development — role of retinoic acid: A review. *Meat Science*, 120, 100–106.
- Waters SM, Kelly JP, O’Boyle P, Moloney AP and Kenny DA 2009. Effect of level and duration of dietary n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on the transcriptional regulation of $\Delta 9$ -desaturase in muscle of beef cattle¹. *Journal of Animal Science* 87, 244-252.
- Wu, G., F. W. Bazer, J. M. Wallace, and T. E. Spencer. 2006. Board-invited review: Intrauterine growth retardation: Implications for the animal sciences. *J. Anim. Sci.* 84:2316–2337. doi:10.2527/jas.2006-156.
- Yan X, Zhu MJ, Dodson MV, Du M. 2012. Developmental programming of fetal skeletal muscle and adipose tissue development. *Journal Genomics* 1:29–38.
- Yang QY, Liang JF, Rogers CJ, Zhao JX, Zhu MJ & Du M. 2013. Maternal obesity induces epigenetic modifications to facilitate zfp423 expression and enhance adipogenic
- Zhang H-b, Wang ZS, Peng Q-H, Tan C and Zou H-W 2014. Effects of different levels of protein supplementary diet on gene expressions related to intramuscular deposition in early-weaned yaks. *Animal Science Journal* 85, 411-4196654-6664.
- Zhu, M. J., B. Han, J. Tong, C. Ma, J. M Kimzey, K. R. Underwood, Y. Ziao, B. W. Hess, S. P. Ford, P. W. Nathanielsz, and M. Du. 2008. AMP-activated protein kinase signaling pathways are down regulated and skeletal muscle development impaired in fetuses of obese, over-nourished sheep. *The Journal of Physiology*. 586:2651-2664.