

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

**APORTES NUTRICIONAIS NA RECRIA A PASTO E
SISTEMAS NA TERMINAÇÃO DE TOURINHOS NELORE:
METABOLISMO, DESEMPENHO E QUALIDADE DA CARNE**

Adriana Cristina Ferrari,
Zootecnista

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

**APORTES NUTRICIONAIS NA RECRIA A PASTO E
SISTEMAS NA TERMINAÇÃO DE TOURINHOS NELORE:
METABOLISMO, DESEMPENHO E QUALIDADE DA CARNE**

Adriana Cristina Ferrari,

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis,

Coorientadora: Dra. Josiane Fonseca Lage

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

F375a

Ferrari, Adriana Cristina

Aportes nutricionais na recria a pasto e sistemas na terminação de
tourinhos Nelore: metabolismo, desempenho e qualidade da carne /
Adriana Cristina Ferrari. -- Jaboticabal, 2019
150 p. : tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Ricardo Andrade Reis
Coorientadora: Josiane Fonseca Lage

1. DDG. 2. Expressão gênica. 3. Qualidade da carne. 4. Nutrição. 5.
Suplemento energético. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: APORTES NUTRICIONAIS NA RECREIAÇÃO A PASTO E SISTEMAS DE TERMINAÇÃO DE
TOURINHOS NELORE: METABOLISMO, DESEMPENHO E QUALIDADE DA CARNE

AUTORA: ADRIANA CRISTINA FERRARI

ORIENTADOR: RICARDO ANDRADE REIS

COORIENTADORA: JOSIANE FONSECA LAGE

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

Professor Titular RICARDO ANDRADE REIS 
Departamento de Zootecnia / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. RONDINELI PAVEZZI BARBERO (Videoconferência) 
Departamento de Produção Animal / Universidade Federal Rural - Rio de Janeiro

Dra MÂRCIA HELENA MACHADO DA ROCHA FERNANDES 
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. ROBERTO DE OLIVEIRA ROÇA (Videoconferência) 
Economia, Sociologia e Tecnologia-FCAV/UNESP / Botucatu/SP

Pos-doutoranda CRISTINA FERNANDA SIMIELLI FONSECA 
Departamento de Zootecnia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 22 de outubro de 2019

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

ADRIANA CRISTINA FERRARI – nascida no dia 26 de janeiro de 1989, na cidade de Botucatu, São Paulo, filha de Jayme Ferrari Junior e Aparecida Odiléia de Souza Ferrari. Iniciou o curso de Zootecnia na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP - Campus Botucatu-SP no mês de março de 2008 e obteve o título de Zootecnista em dezembro de 2012. Em março de 2014 ingressou no curso de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia na FCAV sob orientação do Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis, e coorientação do Prof. Dr. Flávio Dutra de Resende e da Dra. Josiane Fonseca Lage e concluiu em fevereiro de 2016. No mesmo ano, iniciou o curso de doutorado pela FCAV/Unesp – campus Jaboticabal sob orientação do Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis e coorientação da Dra. Josiane Fonseca Lage.

OFERECIMENTO

Ofereço este trabalho, primeiramente, a Deus, que me fez perseverar e tornou esse trabalho possível.

Aos meus pais, Jayme e Odiléia, meus maiores incentivadores em todas as circunstâncias. Eles que foram os insersores de conceitos como a justiça e a verdade em minha vida. São, certamente, co-autores dessa realização.

Aos amigos que fiz durante a trajetória do curso.

AGRADECIMENTOS

À UNESP/FCAV – Campus de Jaboticabal, por intermédio do Programa de Pós Graduação em Zootecnia, pela oportunidade e pelos ensinamentos oferecidos.

Ao professor Ricardo Andrade Reis e Josiane Fonseca Lage, pela orientação e coorientação, ensinamentos, amizade, respeito durante todas as etapas de realização desse trabalho. Agradeço também pelas oportunidades e pela confiança depositada em mim.

Ao Professor Otávio Machado e Larissa Simielli por toda ajuda e dicas quanto a desenvolvimento do experimento de expressão gênica.

A todos os professores da UNESP/FCAV, pela contribuição na minha formação profissional.

À equipe com quem trabalhei durante todo meu percurso na FCAV, Rondineli Pavezzi Barbero, Jefferson Fabiano Wener Koscheck, Tiago Luís Da Ros de Araujo, Lutti Maneck Delevatti, Diego Monteiro Renesto, Alvair Hoffman, Débora Siniscalchi, Natália Fonseca Vilas Boas, Thaiza Rancan, Thaís Ribeiro, Ronyatta Weich, Iago Lúcio, Letícia Estéfani, Aline Rocha e a todos os demais estagiários.

As minhas pupilas do TCC e iniciação Giovanna Oliveira, Gabriela Isys, Luma Moretti e Maria Luisa Curvêlo.

Ao Rhaony Leite, pela amizade e toda a ajuda durante o experimento e depois dele, me ajudando com os cálculos e tabelas de resultados.

Ao Eliéder Romanzini, o “cara da estatística”, que rodou e rerrodou meus dados, me ensinou e ajudou a interpretá-los e, as vezes, mesmo sem saber, me deu dicas valiosíssimas de como explicá-los e com o que compará-los. Além disso, mesmo na correria, próximo a própria qualificação e defesa, não negou ajuda, tirando um tempo para rever os dados e me explicar. Agradeço a toda palavra de conforto, segurança que me passava, dicas profissionais, ajuda na procura de emprego enfim, só tenho que agradecer.

Agradeço demais as amizades que fiz nesses últimos anos, os quais conheci pessoas maravilhosas e espero que continuem fazendo parte da minha vida.

Aos meus pais, Jayme Ferrari Junior e Aparecida Odiléia de Souza Ferrari pelo apoio, respeito, carinho, amor, paciência, conselhos, empenho que me deram em todos os

momentos da minha vida, bem como meus irmãos Ana Carolina Ferrari e Jayme Ferrari Neto que estavam sempre comigo nos momentos bons e ruins.

À república Sófadinhas e Xicreti, minha segunda família.

SUMÁRIO

	Páginas
Certificado de Ética no Uso de Animais	V
APORTES NUTRICIONAIS NA RECRIA A PASTO E SISTEMAS NA TERMINAÇÃO DE TOURINHOS NELORE: METABOLISMO, DESEMPENHO E QUALIDADE DA CARNE	VI
RESUMO	VI
Palavras – chave:	VI
SOURCES OF NUTRIENTS IN POST WEANING ON PASTURE PHASE AND FINISHING SYSTEMS OF YOUNG NELORE BULLS: METABOLISM, PERFORMANCE AND MEAT QUALITY	VII
ABSTRACT -	VII
Keywords:	VII
CAPÍTULO 1 - Considerações gerais	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Manejo de pasto nas águas	3
2.2. Suplementação energética e múltipla (proteico – energética)	5
2.3. DDG	8
2.4. Metano	11
2.5. Sistemas de terminação em pasto e em confinamento	14
2.6. Características de carcaça, qualidade da carne e expressão gênica	15
3. LITERATURA CITADA	18
CAPÍTULO 2 – METABOLISMO E DESEMPENHO DE TOURINHOS NELORE SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES APORTES NUTRICIONAIS NA RECRIA E SEUS IMPACTOS NA MITIGAÇÃO DE METANO ENTÉRICO.	30
RESUMO -	30
Palavras – chave:	30
CHAPTER 2 – METABOLISM AND PERFORMANCE OF NELORE YOUNG BULLS FED WITH DIFFERENTS NUTRITIONAL APORTS ON POST-WEANING PHASE AND IT EFFECTS ON DEGREASE METHANE EMISSION.	31
ABSTRACT -	31
Keywords:	31
1. INTRODUÇÃO.....	32
2. MATERIAIS E MÉTODOS	33
2.1. Área experimental e método de pastejo	33
2.2. Tratamentos e período experimental	35

2.3.	Massa e características morfológicas e nutricionais do pasto	36
2.4.	Valor nutritivo	37
2.5.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes	38
2.6.	Parâmetros ruminais	38
2.7.	Eficiência microbiana e balanço de nitrogênio	39
2.8.	Desempenho dos animais	39
2.9.	Metano entérico	40
2.10.	Análise estatística	41
3.	RESULTADOS	42
4.	DISCUSSÃO	51
5.	CONCLUSÃO	58
6.	LITERATURA CITADA	58
CAPÍTULO 3 – APORTES NUTRICIONAIS NA RECRIA DE TOURINHOS SOBRE O DESEMPENHO NA TERMINAÇÃO EM PASTAGENS OU CONFINAMENTO.		65
RESUMO -		65
Palavras – chave:		65
CHAPTER 3 – NUTRIENT SOURCES IN POST-WEANING STAGES OF YOUNG BULLS OVER ITS PERFORMANCE ON PASTURE OR FEEDLOT FINISHING		66
ABSTRACT:		66
Keywords:		66
1.	INTRODUÇÃO	67
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	68
2.1.	Local e área experimental	68
2.2.	Experimento, animais e método do pastejo	68
2.3.	Massa de forragem e composição morfológica dos pastos na estação seca.	70
2.4.	Composição química	74
2.5.	Consumo e digestibilidade dos nutrientes	75
2.6.	Desempenho dos animais e características de carcaça	75
2.7.	Análise estatística	76
3.	RESULTADOS	76
4.	DISCUSSÃO	84
5.	CONCLUSÃO	87
6.	LITERATURA CITADA	88
CAPÍTULO 4 – REGULAÇÃO NUTRIGENÔMICA DO METABOLISMO LIPÍDICO DO TECIDO MUSCULAR DE BOVINOS NELORE		94
RESUMO -		94

Palavras – chave	94
CHAPTER 4 – NUTRIGENOMIC REGULATION OF LIPIDIC METABOLISM FROM NELORE BULL MUSCLE TISSUE	95
ABSTRACT -	95
Keywords.....	95
1. INTRODUÇÃO.....	96
2. MATERIAIS E MÉTODOS	97
2.1. Tratamentos	97
2.2. Expressão gênica	99
2.2.1. Coleta de amostras	99
2.2.2. Extração do RNA total e síntese de DNA complementar	99
2.3. Quantificação da expressão gênica	100
2.4. Análises estatística	103
3. RESULTADOS	104
4. DISCUSSÃO	106
5. CONCLUSÃO	108
6. LITERATURA CITADA	108
7. ANEXOS.....	112
CAPÍTULO 5 – QUALIDADE DA CARNE DE TOURINHOS NELORE SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES APORTES NA RECRIA E TERMINADOS EM PASTO OU CONFINAMENTO CONVENCIONAL	118
RESUMO	118
Palavras – chave:	118
CHAPTER 5 – MEAT QUALITY OF NELORE YOUNG BULLS SUPLEMENTES ON POST-WEANING PHASE WITH DIFFERENT SOURCE OF NUTRIENT AND FINISHED IN PASTURE OR FEEDLOT	119
ABSTRACT -	119
Keywords:.....	119
1. INTRODUÇÃO.....	120
2. MATERIAIS E MÉTODOS	121
2.1. Área e período experimental	121
2.2. Tratamentos	122
2.3. Terminação em confinamento convencional	124
2.4. Terminação em pasto com suplementação de alto consumo	125
2.5. Características da forragem	126
2.6. Colheita de amostra	127
2.7. pH	128

2.8.	Coloração da carne e da gordura subcutânea	128
2.9.	Força de cisalhamento.....	128
2.10.	Perdas por cocção	129
2.11.	Capacidade de retenção de água.....	129
2.12.	Índice de fragmentação miofibrilar.....	129
2.13.	NIRS – Foss FoodScan™.....	130
2.14.	Oxidação lipídica.....	130
2.15.	Perfil de ácidos graxos	131
2.16.	Análise estatística.....	131
3.	RESULTADOS	132
4.	DISCUSSÃO	139
5.	CONCLUSÃO	144
6.	LITERATURA CITADA	144

Certificado de Ética no Uso de Animais
CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 12703/15 do trabalho de pesquisa intitulado **"Management strategies to reduce environmental impacts of beef cattle production systems"**, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Ricardo Andrade Reis está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), em reunião ordinária de 07 de agosto de 2015.

Jaboticabal, 07 de agosto de 2015.


Prof.ª Dr.ª Paola Castro Moraes
Coordenadora – CEUA

APORTES NUTRICIONAIS NA RECRIA A PASTO E SISTEMAS NA TERMINAÇÃO DE TOURINHOS NELORE: METABOLISMO, DESEMPENHO E QUALIDADE DA CARNE

RESUMO – O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da suplementação sobre o desempenho, utilização de nitrogênio e mitigação de gás metano (CH₄) em tourinhos Nelore na recria e, como o histórico de suplementação influencia no desempenho, expressão gênica e qualidade da carne desses animais. O trabalho foi dividido em experimento de recria e em experimento de terminação. Na recria, foram utilizados 60 tourinhos Neloires com idade média de 12 meses distribuídos em 9 piquetes de capim Marandú recebendo três tipos de suplementação a 0,3% PC: FS) suplemento múltiplo (proteico – energético) com farelo de soja; SE) suplemento energético e SD) suplemento múltiplo com DDG. Concomitante a este experimento, seis animais castrados e fistulados no rúmen, foram distribuídos nos três tratamentos para avaliação de consumo dos nutrientes, parâmetros ruminais e balanço e eficiência microbiana em delineamento quadrado latino duplo incompleto. Dentre os 60 animais destinados a avaliação de desempenho, foram escolhidos 18 tourinhos para determinação de produção de CH₄. A análise estatística utilizada no experimento de desempenho e produção de gás metano foi o delineamento inteiramente casualizado. No experimento de terminação, foram utilizados 80 tourinhos Nelore que, na recria, receberam quatro tipos de suplementos: MM) mistura mineral *ad libitum*; FS; SE e SD foram terminados em dois sistemas. Dez animais de cada tratamento permaneceram em pasto e receberam suplemento de alto consumo a base de milho e DDG e, os outros dez animais de cada tratamento foram alocados em confinamento convencional. Foram feitas as avaliações de consumo e digestibilidade dos nutrientes, desempenho animal, características de carcaça, qualidade da carne e expressão de genes relacionados ao metabolismo de lipídeos. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com arranjo fatorial 4x2 analisados em pacote estatístico S.A.S. Para comparação de médias foi utilizado o teste Tukey com nível de significância $p < 0,05$. Na recria, os animais alimentados com SD excretaram menos nitrogênio na urina e tiveram menor produção de gás metano por kg de matéria seca consumida que os animais do tratamento SE. Os tratamentos estudados durante a recria não apresentaram diferença no desempenho dos animais, sendo viável a suplementação energética e múltipla com DDG substituindo suplementos múltiplos com farelo de soja. Durante a terminação, os animais terminados em pasto consumiram menos alimento e foram abatidos com menor peso, menor peso de carcaça quante, espessura de gordura porém, apresentaram maior rendimento de carcaça. Animais terminados em confinamento convencional também apresentaram carne com menor força de cisalhamento e maior proporção de ácidos graxos monoinsaturados, que apresentaram melhor qualidade da carne que animais terminados em pasto. Os animais terminados em pasto apresentaram menor expressão do fator de transcrição SREBP1c, que influenciou no menor depósito de gordura desses animais.

Palavras – chave: DDG, expressão gênica, qualidade da carne, nutrição suplemento energético

SOURCES OF NUTRIENTS IN POST WEANING ON PASTURE PHASE AND FINISHING SYSTEMS OF YOUNG NELORE BULLS: METABOLISM, PERFORMANCE AND MEAT QUALITY

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate the effect of supplementation on performance, nitrogen use and methane gas (CH₄) mitigation in Nelore bulls on post weaning phase and, investigate how the history of supplementation influences performance, gene expression and meat quality of these bulls. The study was divided into post weaning experiment and finishing experiment. On post weaning phase, 60 Nelore's bulls with an average age of 12 months, were distributed in 9 paddocks receiving three types of supplementation at 0.3% PC: SB) multiple supplementation (protein - energy) with soybean meal; ES) energy supplement and SD) multiple supplement with DDG. Concomitant to this experiment, six castrated and fistulated animals were distributed in three treatments (two animals per treatment) for nutrient intake evaluation, ruminal parameters, nitrogen balance and microbial efficiency in the incomplete double-square Latin design. Among those 60 animals used for performance evaluation, 18 bulls were selected for determination of CH₄ production. The statistical analysis used in the methane gas production and performance experiment was randomly designed as the data analysis was performed using the SAS (2008). On finishing experiment, 80 Nelore bulls were used receiving four types of supplements: MM) mineral mixture *ad libitum*; FS; SE and SD (20 animals per treatment) on post weaning phases were finished in two systems. Ten animals from each treatment keep on pasture and receive high intake supplements based on maize and DDG, and another ten animals from each treatment are allocated in conventional feedlot. Nutrient intake and digestibility, animal performance, carcass characteristics, meat quality and expression of genes related to lipid metabolism were evaluated. The statistical analysis used was randomized designed with a factorial arrangement 4x2 analyzed in the S.A.S. statistical package. For comparison of media, was used Tukey test with significance level $p < 0.05$. During post weaning experiment, animals fed with DS excreted less nitrogen in the urine and had the lowest methane gas production per kg of dry matter intake than ES animals. There was no difference in animal performance, being possible to replace conventional supplements to DDG and energy supplement without negatives results in animal performance. During finishing, the animals at express feedlot had lower intake and were slaughtered with lower body weight, lower carcass weight, fat thickness but higher carcass yield. Animals finishing in conventional feedlot had lower shear force and higher proportion of monounsaturated fat acids, presenting better meat quality than animals finished in express feedlot®. The animals finished in express feedlot have lower expression of the transcription factor SREBP1c, which influenced the lower fat deposition of these animals.

Keywords: DDG, gene expression, meat quality, energy supplement, nutrition

CAPÍTULO 1 - Considerações gerais

1. INTRODUÇÃO

O uso de técnicas de manejo em sistema de produção em pasto tem como objetivo melhorar a eficiência do crescimento animal, tendo em vista que as forrageiras tropicais sofrem alterações qualitativas e quantitativas ao longo do ano. No manejo de pastos tropicais a principal meta é manter a elevada proporção de folhas verdes, o que resulta na obtenção de forragem com alto valor nutritivo. A intensificação da produção de bovinos em pastagens, com o objetivo de aumentar o ganho de peso por animal e por área, em menor tempo, propõe minimizar o efeito das alterações nutricionais do pasto pelo uso de suplementos, que devem ser formulados em função da oferta e composição da forragem. Os suplementos devem ser utilizados com intuito de corrigir os nutrientes deficientes no pasto (Euclides e Medeiros, 2005), a fim de obter melhores resultados na síntese de novos tecidos corporais.

De acordo com Poppi e McLennan (1995), na fase de recria, altos níveis de proteína degradável no rúmen (PDR), presentes na forrageira no período chuvoso, são perdidos na forma de amônia em função da carência de energia no ambiente ruminal, caracterizada pela baixa velocidade de degradação dos carboidratos fibrosos da forragem (Detmann et al., 2005), interferindo assim na síntese de proteína microbiana. Dessa forma, suplementos energéticos aumentam a disponibilidade de energia no rúmen e, conseqüentemente, o uso da amônia ali presente, maximizando assim a síntese de proteína microbiana (Poppi e McLennan, 1995 e Moore et al., 1999), resultando em maior ganho de peso dos animais (Casagrande et al., 2013, Barbero et al., 2015).

Além dos ganhos em produção, o fornecimento de suplemento energético, como por exemplo o de milho moído, pode otimizar o uso de nitrogênio diminuindo sua excreção. De acordo com Davies et al. (2005), o excesso de amônia ruminal, causada pela alta degradação da proteína no rúmen (PDR) e baixa liberação de energia a partir da fração fibrosa da dieta, compromete a eficiência da síntese de proteína microbiana, causando um excesso de nitrogênio que precisa ser eliminado. Estudos conduzidos com bovinos Nelore (Vieira, 2011; Casagrande et al., 2013 e Oliveira, 2014), mostram que forragem de alta qualidade, associada a suplementação

a 0,3% do peso corporal (PC), maximizam o desempenho. Isso é possível pela adição de carboidratos não estruturais a dieta, como por exemplo, suplemento concentrado a base de milho e polpa cítrica, que podem causar mudanças no perfil de fermentação ruminal (Seal e Parker, 1994; Casagrande, 2010; Oliveira, 2014).

O uso de suplementos múltiplos (proteico - energético) vem mostrando resultados vantajosos. Siebert e Hunter (1982), afirmam que há um aumento no consumo da forragem e no desempenho animal quando se fornece suplementos proteicos de baixa degradação ruminal, permitindo assim a absorção de aminoácidos no intestino. O uso de concentrado na produção animal também apresenta vantagens na diminuição das perdas energéticas para produção de gás metano (IPCC, 2019), que ocorre pela alteração das vias de fermentação ruminal, melhorando o desempenho e permitindo uma redução considerável no período de terminação do animal, tanto em pasto ou em confinamento, com possíveis retornos econômicos (Reis et al., 2011, Barbero et al., 2017).

Na formulação dos suplementos, também deve-se considerar os ingredientes proteicos da dieta, que apresentam custo mais elevado comparado com as fontes de energia. Dessa forma, ingredientes proteicos alternativos que apresentem um melhor custo-benefício, devem ser testados e incorporados na dieta de bovinos de corte, de acordo com sua efetividade no crescimento dos mesmos, sem impactos negativos na qualidade da carne. Uma alternativa na substituição de ingredientes proteicos é o uso de DDG (*"dried distiller's grains"*), coproduto da indústria de destilaria do milho para produção de etanol, com alta proteína de baixa degradação ruminal em sua composição.

Em metanálise de nove experimentos com inclusão de DDG e WDG (*"Wet distiller's grain"*) na dieta de bovinos de corte confinados, Klopfenstein et al. (2008), observaram que a inclusão de 40% de DDG na MS da dieta mostrou efeito positivo sobre o consumo de matéria seca (CMS), ganho médio diário (GMD), e eficiência alimentar (Klopfenstein et. al., 2008; Ham et.al, 1994). Benson et. al. (2005), constataram que o GMD aumentou com a inclusão de 35% de DDG na dieta de bovinos de corte confinados, sendo que o CMS também aumentou linearmente com a inclusão de DDG, assim como a eficiência alimentar. Nesses estudos, o DDG utilizado apresentava média de proteína bruta (PB) de 28% e extrato etéreo (EE) de

10%. Poucos estudos têm avaliado os efeitos da alimentação, em longo prazo, com os grãos de destilaria no desempenho, características de carcaça e qualidade da carne de bovinos de corte e, dados limitados estão disponíveis a respeito de animais alimentados em sistema de pastejo.

Desta forma, objetiva-se nesta pesquisa determinar o ganho de peso de tourinhos Nelore criados em pastagem durante a época das águas, suplementados com milho, representando a suplementação energética, e DDG substituindo o farelo de soja, no suplemento múltiplo (proteico – energético) e seus impactos na utilização de nitrogênio e mitigação de gás metano. Na terminação, o objetivo foi avaliar o desempenho, a qualidade da carne e expressão dos genes envolvidos no metabolismo lipídico de tourinhos Nelore alimentados na recria com diferentes aportes nutricionais e DDG substituindo o farelo de soja na terminação em confinamento convencional ou em pasto com suplementação de alto consumo durante a época seca do ano.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Manejo de pasto nas águas

Capins do gênero *Urochloa* passaram a ocupar lugar de destaque na pecuária brasileira por ser uma planta resistente as variações edafoclimáticas (Costa et al., 2006). Apesar do potencial dessa forrageira, o regime principal da pecuária brasileira continua sendo o extensivo, implantadas em solos de baixa fertilidade natural, ácidos e limitantes quanto a topografia (Martha Júnior e Vilela, 2002). Por essa razão, a máxima produção forrageira e desempenho animal não são alcançados, sendo cerca de dez vezes menores que o potencial produtivo (Aidar e Kluthcouski, 2003).

Uma maneira de evitar essa situação, é manter os níveis ideais de fertilidade do solo estabelecendo um manejo de pasto adequado, mantendo a fertilidade do solo com adubação, a fim de favorecer o desenvolvimento da planta.

Um dos nutrientes mais limitantes a produtividade das forrageiras é o nitrogênio. Segundo Werner (1986), uma das funções do nitrogênio é a participação na formação de proteínas e cloroplastos da planta, tornando-se essencial no

crescimento de folhas, colmo, formação e desenvolvimento de perfilhos. A adição de nitrogênio à cultura torna-se necessária uma vez que a disponibilidade desse nutriente no solo, na forma de matéria orgânica, não é suficiente para suprir as necessidades das plantas. Segundo Kluthcouski e Aidar (2003), a adição de nitrogênio aumenta de imediato a produção da forragem, acelerando seu crescimento (Fagundes et al., 2005; Mesquita et al., 2010), e, a recomendação de adubação é de acordo com a espécie e as metas estabelecidas.

A *Urochloa brizantha* cv Marandu, tornou-se uma das espécies mais estudadas (Silva, 2004), e ocupa grande extensão de cultivo no território brasileiro. Em sistema de pastejo de lotação contínua e carga variável, as metas de manejo recomendadas para essa forrageira, referem-se à interceptação luminosa (IL) de 95%, correspondente à altura de 25 cm, onde os maiores índices produtivos por animal foram observados (Koscheck, 2016; Barbero, 2015). Outros estudos, ao avaliarem o pastejo intermitente, recomendam a altura ideal de pré-pastejo de 25 cm e pós pastejo de 15 cm (Hodgson e da Silva, 2002; Trindade et al. 2007; Giacomini et al., 2009).

O pastejo aumenta a taxa de reciclagem de nitrogênio a partir das fezes e urina excretada pelos animais, além disso, facilita a decomposição de substrato e mineralização do nitrogênio (Singh et al., 1991), podendo assim, aumentar a disponibilidade do nutriente na superfície do solo (Archer e Smeins, 1991). De acordo com Whitehead (1995), parte da exigência da planta por nitrogênio é suprida pela absorção de formas orgânicas, porém a absorção de nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4) atende quase que a totalidade do N necessário ao crescimento da forrageira. Assim, a planta tem suas exigências atendidas pelo somatório de nitrogênio residual orgânico, bem como das frações provenientes de fertilizantes e da atmosfera.

Conhecer as necessidades de nutrientes e a capacidade da planta em extraí-los do solo é essencial para se estabelecer o manejo que resulte na produção de forragem com alto valor nutritivo. O nitrogênio fornecido em forma de fertilizante pode aumentar a produção de matéria seca e o teor de proteína da planta favorecendo seu crescimento (Havlin et al., 2005).

Os solos do setor de Forragicultura da FCAV – Unesp campus Jaboticabal, tem um histórico de correção e adubação, desta forma, os índices produtivos dos pastos são elevados, apresentando altos teores de proteína bruta, baixos teores de

componentes da fração fibrosa e alta digestibilidade do capim Marandu. Estudos conduzidos no setor comprovam os altos índices referentes ao valor nutritivo de amostras de pastos colhidos segundo a técnica de pastejo simulado (Sollenberger e Cherney, 1995), com valores de 15% de proteína bruta, 57% de FDN (Casagrande, 2010; Barbero, et al., 2015; Hoffman, 2019), 15% FDNi (Hoffman, 2019) e 70% de digestibilidade em vitro da matéria orgânica (Barbero et al., 2015) no período das águas a 11% de PB (Barbero et al., 2017, Koscheck, 2016; Hoffman, 2019), 58% de FDN, 25% de FDNi e 55% de digestibilidade da matéria orgânica (Koscheck, 2016) no período da seca. De acordo com a composição química dos pastos, principalmente o teor de proteína, foram formulados os suplementos de diferentes aportes nutricionais a fim de potencializar o desempenho animal.

2.2. Suplementação energética e múltipla (proteico – energética)

A intensificação da produção em pasto, visando alto ganho de peso animal e redução na idade ao abate requer o manejo da pastagem para a obtenção de forragem de alto valor nutritivo associado a suplementação da dieta, proporcionando maior eficiência no uso dos nutrientes da dieta e no ganho de peso. A suplementação pode ser mineral, energética, proteica ou múltipla (proteica – energética), o tipo de suplemento formulado dependerá das propriedades químicas e disponibilidade da forrageira em pastejo.

Em condição de pastejo, deve-se considerar a síntese de proteína microbiana para atender os requerimentos proteicos dos animais em pastejo. Contudo, este processo requer, como principal fonte de nutrientes, as proteínas e carboidratos provenientes da dieta dos ruminantes mantidos no pasto. Segundo Church (1990), a associação entre a composição e potencial de degradação dos alimentos determina o crescimento microbiano e a produção de ácidos graxos de cadeia curta, fonte de proteína e energia para os ruminantes, respectivamente.

Em pasto de alta qualidade, com alto concentração de nitrogênio solúvel (Poppi & McLennan, 1995), é essencial uma fonte de carboidrato de rápida degradação a fim de aumentar a eficiência de utilização das formas de nitrogênio pelos microrganismos ruminais (Costa et al., 2015). O fornecimento de energia prontamente digestível

diminui as perdas de nitrogênio a partir da urina, aumentando a síntese de proteína microbiana e desempenho animal pelo melhor balanço entre energia disponível e amônia no rúmen (Moore et al., 1999). Fato observado por Santana (2006), no qual bovinos recriados em pastagem de capim-tanzânia com média de 13% de PB, associado a suplementação energética a base de milho, em nível de 0,8% PC tiveram aumento do ganho de peso na fase de recria. Nesses casos, a energia prontamente fermentável advinda do suplemento energético, melhorou a síntese de proteína microbiana e, conseqüentemente o desempenho animal (Moore et al., 1999).

Outra alternativa de suplemento a ser fornecido a animais em dieta com forrageiras de alta qualidade, com consideráveis teores de carboidratos não fibrosos, são os suplementos múltiplos com alto valor de proteína não degradável no rúmen (PNDR). Neste caso, deve se levar em consideração os ingredientes utilizados na formulação. Os suplementos disponibilizam energia para otimizar a utilização de nitrogênio amoniacal do rúmen, melhorando a síntese de proteína microbiana e, a PNDR, de alta qualidade, suprirá aminoácidos que serão absorvidos no intestino (Swanson et al., 1999; Bethard et al., 1997).

Há uma associação na atividade dos microrganismos ruminais quanto a utilização dos nutrientes (Annisin e Bryden, 1998), como por exemplo os fungos, que facilitam o ataque das bactérias aos nutrientes em dietas de alta fibra, porém, também pode haver relacionamento negativo, como por exemplo os protozoários que predam as bactérias. A população dos diferentes microrganismos é dependente da flutuação do pH que, por sua vez, depende da degradação da matéria orgânica ingerida (Haryanto, 2014).

O produto final da atividade microbiana são os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), usados como fonte de energia pelo ruminante. Concomitante a produção desses ácidos há a produção de CO₂, CH₄ e H₂O. Os AGCC são absorvidos pela parede ruminal e aceleram o transporte de ureia ao rúmen via reciclagem, eliminando prótons presentes no rúmen (Haryanto, 2014). Haryanto et al. (2010), sugerem que a interação entre transporte de AGCC, ureia e amônia é um processo evolutivo do ruminante para coordenar a fermentação de ingredientes energéticos, assimilar a proteína e regular o pH ruminal.

O balanço de energia e proteína no rúmen é fundamental para eficiência do sistema (Belanche et al., 2012). Características físicas do nutriente interferem diretamente na sua degradabilidade e tem papel fundamental na eficiência de utilização do nutriente pelo animal. A sincronização do amido com a proteína pode não apresentar efeito no consumo e digestibilidade dos nutrientes (Birick et al., 2006) porém, o pH e a relação acetato:propionato mudam conforme a degradação do carboidrato utilizado na dieta (Haryanto, 2014).

É importante que não haja degradação total de proteína no rúmen para não ocorrer perdas de aminoácidos pelo hospedeiro. A porção não degradável no rúmen pode ser usada como fonte de aminoácido no metabolismo de tecidos (Haryanto, 2014). É esperado que a PNDR aumente a produtividade do ruminante, aumentando o teor de proteína da carne (Haryanto, 2014).

Fernandes et al. (2010), observaram ganhos de peso de 0,77 a 1,06 kg/dia nos animais que receberam suplemento a 0,6% PC, em comparação a animais não suplementados, atribuindo o ganho de 37% a mais dos animais suplementados ao maior aporte de energia, proteína total e proteína de baixa degradação ruminal do suplemento ofertado. Estudos conduzidos com bovinos Nelore em fase de recria, mostraram que a suplementação múltipla da dieta na quantidade de 0,3% PC, permitiu ganhos adicionais de até 31% no ganho médio diário (GMD) em relação aos animais que receberam somente mistura mineral (Hoffmann, 2019), com aumento na deposição de músculo em novilhas mantidas em pastagem de capim Marandu no período das águas (Moretti, et. al., 2011). Resultados semelhantes foram observados por Casagrande et. al. (2011), Vieira (2011) e Oliveira (2012), onde a suplementação múltipla (0,3% PC) aumentou o GMD dos animais cuja dieta foi suplementada em relação àqueles que só recebiam mistura mineral.

Ganhos adicionais de 200 gramas são observados com o uso de concentrado múltiplo a 0,25 e 0,3% PC no período das águas (Thiago e Silva, 2001). A suplementação promove ganhos positivos sobre o consumo de nutrientes, aumentando sua utilização em nível ruminal, melhorando assim o desempenho animal. Para isso é importante o entendimento da dinâmica dos nutrientes, a composição dos pastos e suplementos a serem utilizados. Em pastos de alta qualidade, com alta concentração de nitrogênio solúvel, a fonte proteica desejada ao

suplemento deve apresentar baixo valor de proteína degradável no rúmen (PDR) e alto valor de PNDR (Thiago e Silva, 2001)

Estratégias de suplementação são essenciais para manutenção de níveis produtivos desejados. Sendo assim, na formulação dos suplementos, também deve-se considerar o ingrediente proteico a ser utilizado, uma vez que este apresenta custo mais elevado comparado com as fontes de energia. Dessa forma, ingredientes proteicos alternativos que apresentem um melhor custo-benefício, devem ser testados e incorporados na dieta de bovinos de corte, de acordo com sua efetividade no crescimento dos mesmos, sem impactos negativos na qualidade da carne. É interessante o uso de suplementos de baixo custo, com substituição de ingredientes tradicionais por coprodutos da agroindústria, permitindo aumento na rentabilidade econômica do sistema (Zervoudakis et al., 2011).

2.3. DDG

Os DDG (*"dried distiller's grains"*) ou WDG (*"wet distiller's grains"*) são coprodutos da indústria de destilaria do milho para produção de etanol e, são fontes de proteína quando seco e energia quando úmido, sendo assim, podem constituir uma alternativa interessante aos ingredientes proteicos de alto custo para o produtor, além de possuir grande quantidade de proteína não degradada no rúmen (PNDR), com valores de 50 a 55% (Fonseca, 2018) ao DDG brasileiros. De acordo com Spiehs et al. (2002), a hidrólise, e posterior fermentação do amido em etanol, aumenta de 10 para 30% os teores de proteína, de 4 para 12% os valores de lipídeo e de 0,3 para 0,9% os teores de fósforo, porém esses nutrientes são variáveis em função do tipo, qualidade, variedade e sistema de produção do grão e, também pelo processamento nas destilarias (Tjardes e Wright, 2002). Tjardes e Wright (2002), encontraram variações de 25 a 32% nos teores de PB, e de 43 a 53% nos valores de PDR em trabalhos com gado de corte.

A produção de etanol no Brasil tem, em sua maioria, a cana-de-açúcar como matéria-prima. O uso de milho para produção de etanol tem se destacado, principalmente no Mato Grosso, o que propiciou aumento na disponibilidade, mas ainda em baixa quantidade, do DDG. Tjardes e Wright (2002), alertam sobre as variações nos teores de nutrientes do DDG e os níveis de substituição adequados

desse coproduto na nutrição animal. A grande diferença entre o DDG brasileiro e norte americano encontrado em estudos é o teor de extrato etéreo, causado pelas diferenças no processo de produção de etanol.

A cada tonelada de grão de milho, é produzido 460L de etanol e 380 kg de DDG (Wyman, 1996). No processo, utiliza-se o amido para a produção de etanol o que aumenta em até 3 vezes as concentrações de proteína, lipídeos (quando reincorporados os solúveis) e fibra (Spiehs et al., 2002), tornando o DDG pobre em amido ($7,3 \pm 1,4\%$ MS) (Stein e Shurson, 2009), porém rico em fibra em detergente neutro (FDN) de fácil digestão (Lodge et al., 1996) e proteína, podendo ser utilizado na nutrição animal.

O processamento de milho para produção de etanol consiste em seis etapas: moagem, maceração, cozimento, hidrólise enzimática, fermentação e destilação. Os resíduos desse processo, normalmente descartados, podem ser aproveitados (Alves et al., 2012; USGC, 2012) e, para isso, passam por centrifugação a fim de separar as frações hidrossolúveis, lipídica e sólida (DDG) (Weigel et al., 1997).

O grão de milho é moído em partículas menores, expondo o amido (Stock et al. 2000), são adicionados água e amilase, formando uma mistura para seguir à fase de cozimento. As enzimas são adicionadas a mistura para converter o amido em glicose que, posteriormente será fermentada pelas leveduras produzindo álcool, etapas chamadas de sacarificação e fermentação (Stock et al. 2000; Bothast e Schlicher 2005).

Após a fermentação, a massa é destilada para remover o etanol (Stock et al. 2000; Gibb et al. 2008), ficando suspenso o produto da fermentação remanescente. Este é centrifugado e peneirado para remover as partículas de grão grossos. Essas partículas grossas são chamadas de WDG (*“wet distiller’s grains”*), que quando secas formam o DDG (*“dried distiller’s grains”*).

A fração líquida restante ou condensados solúveis da destilação (CSD) pode ser adicionada ao WDG formando o WDGS (*“wet distiller’s grains with solubles”*) ou secas junto ao DDG, formando o DDGS (*“dried distiller’s grains with solubles”*) (Stock et al. 2000). Essa prática de reincorporação não é comum nas usinas produtoras de etanol a partir do milho no Brasil. Como resultado da reincorporação da fração líquida há um aumento do teor de extrato etéreo no DDG (Noll et al., 2007) variando de 8,8%

a 12% (Ganesan et al., 2005). Sendo assim, os teores de extrato etéreo no DDG brasileiro são inferiores aos encontrados no DDGS do Estados Unidos e Canadá.

A principal fonte de variação na composição do DDG está na secagem e reincorporação do CSD. Na secagem, as alterações se dão quanto a temperatura utilizada, podendo influenciar na disponibilidade da proteína (Swietkiewicz e Koreleski, 2008), aumentando o teor de proteína não degradável no rúmen (PNDR), mas também pode ocorrer aumento da fração de nitrogênio ligado a fração de fibra em detergente ácido (fração C), chegando a valores de 18% dessa fração (Fonseca, 2018).

O processamento do milho, que dá origem ao DDG, pode reduzir a disponibilidade da proteína no rúmen pelo calor aplicado durante o processo de secagem (Castillo-Lopez et al., 2012), aumentando a concentração de proteína não degradável no rúmen (PNDR), chegando a concentrações de 62% (Mjoun et al., 2010) uma vez que o glúten não é removido durante o processamento do grão, hidrólise e fermentação do amido (Stock et al., 2000).

Como citado anteriormente, pastos tropicais, submetidos ao manejo com base em 95% IL, apresentam altos teores de proteína solúvel (Barbero et al., 2015, Delevatti et al., 2018). Nessa condição, a suplementação múltipla com ingredientes convencionais pode promover um excesso de amônia ruminal devido e lenta degradação das frações fibrosas, comprometendo a síntese de proteína microbiana (Moore et al., 1999). Uma alternativa a essa condição é o fornecimento de ingredientes ricos em PNDR, como o DDG, aumentando a quantidade de proteína que chega ao intestino e permitindo resultados positivos no desempenho animal (Macdonald et al., 2007; Loy et al., 2008), fato desejável quando se almejam ganhos elevados, principalmente em animais na fase de crescimento, que possuem alta exigência em aminoácidos.

Este coproduto da indústria do álcool de milho já vem sendo bastante utilizados na nutrição animal nos Estados Unidos e vem apresentando resultados interessantes. Buckner et. al. (2008), testaram a inclusão de até 40% de DDG na matéria seca (MS) da ração e observaram que os níveis de inclusão do coproduto resultaram em maior GMD em comparação com a dieta controle, sem uso de grão de destilaria. Resultados semelhantes foram encontrados por Al-Suwaiegh et al. (2002), que observaram 10% a mais em ganho de peso e 8% a mais em eficiência alimentar em novilhos em dieta

de terminação, onde a inclusão de grão de destilaria úmido foi em 30% na MS em relação a animais alimentados com a dieta controle.

2.4. Metano

O Brasil, por apresentar o maior rebanho bovino comercial em sistema de criação em pasto, tem contribuído com a emissão de metano entérico por ruminantes. De acordo com Histov et al. (2013), a fermentação dos compostos orgânicos no rúmem representa uma das maiores fontes de produção de metano (CH_4) e dióxido de carbono (CO_2).

O CH_4 , é um composto com grande potencial de retenção de calor, sendo 28 vezes maior que o CO_2 (IPCC, 2013 citado por Oliveira e Igarasi, 2013), liberado da fermentação ruminal, tem relação direta com a eficiência fermentativa dos nutrientes. A produção de CH_4 diminui a eficiência energética com perdas de carbono, a troca do tipo de carboidrato presente na dieta pode diminuir essas perdas (IPCC, 2019). A redução da produção de CH_4 de origem ruminal aumenta a eficiência de utilização dos alimentos, sendo interessante, uma vez que podem resultar em benefícios econômicos ao sistema (Mcginn et al., 2004).

Os microrganismos responsáveis pela produção de CH_4 são as *Archaea*, pertencentes aos gêneros *Methanobrevibacter*, *Methanobacterium*, *Methanomicrobium* e *Methanosarcina* (Lange et al., 2005), esses microrganismos encontram-se associados aos protozoários e fungos (McAllister et al., 1996). Esses microrganismos utilizam o hidrogênio (H_2) para reduzir o CO_2 , e assim obtém energia para seu crescimento, formando o CH_4 , que será eliminado no ambiente pela eructação do ruminante. Esses microrganismos têm como função o equilíbrio do ecossistema ruminal, utilizando íons H^+ do meio (Berchielli, 2012), impedindo a queda de pH (Grande e Santos, 2010).

A produção de CH_4 está relacionada ao tipo de animal e do sistema de criação no qual se encontra. É possível a manipulação do sistema nutricional a fim de mitigar as emissões de gases de efeito estufa (Rivera et al., 2010), levando ao desenvolvimento de várias pesquisas na área (Machado et al, 2010; Arrigoni et al, 2013; Freiri, 2015; Barbero et al., 2015).

A produção de CH₄, em se tratando da nutrição, representa perdas de 2 a 15% da energia dos alimentos (Johnson e Johnson, 1995; Moss, 2000). Os microrganismos envolvidos, tem grande importância na manutenção do ambiente ruminal, como comentado anteriormente, e no processo fermentativo atuando no controle do pH. Estudos indicam que, o uso de óleo na dieta tem diminuído a produção de CH₄ sem interferir no desempenho animal (Jouany, 1994; McAllister et al., 1996), bem como a utilização de dietas de maior digestibilidade dos nutrientes e menor teor de carboidratos estruturais (Oliveira, et al., 2017).

Dietas a base de forragem, em função da fermentação dos carboidratos estruturais, proporcionam maior produção de metano entérico. O acetato, produto final dessa fermentação, aumenta a liberação de H₂ (Nussio et al., 2006; Oliveira et al., 2013), que é usado como substrato para produção de CH₄. Segundo Beauchemin et al. (2008), forragens com alta concentração de carboidratos solúveis e menor teor de fibras reduzem a produção de CH₄, permitindo um aumento da eficiência energética da digestão ruminal.

O uso de concentrados na dieta também resultam em diminuição da produção de metano entérico quando comparados a animais que recebem somente suplementação mineral (Barbero et al., 2015; Koscheck, 2016). Isso ocorre pela maior quantidade de carboidratos solúveis presentes no concentrado e maior digestibilidade, reduzindo o substrato para síntese de CH₄. A adição de concentrado à dieta também mostra vantagens na diminuição da produção total de CH₄ pelo animal pois, estes serão abatidos mais jovens (Lima et al., 2007), diminuindo o tempo total de produção de CH₄ do animal, tornando interessante estudos sobre a produção de CH₄ em função dos ingredientes utilizados na formulação dos concentrados.

Outro fato do uso de concentrado é que, a rápida digestão, reduz o pH ruminal afetando as *Archaeae* metanogênicas, sensíveis as alterações de pH (Berchielli et al., 2006). O uso de concentrados e dietas com alto teor de carboidratos de alta degradação vão aumentar a proporção de propionato, que consome H₂ na sua síntese, diminuindo o substrato para produção de CH₄ (Hegarty, 2001). O amido presente no suplemento afeta os produtos da fermentação ruminal reduzindo o H₂ disponível aos microrganismos metanogênicos pelo aumento de propionato (Morgavi et al., 2008).

De acordo com Barbero et al. (2015), a intensidade de pastejo influencia o GMD e, em consequência a emissão de CH₄ pelo animal. Os autores avaliaram a altura de pastejo usando mesma quantidade de suplemento quanto a emissão de CH₄ individual e por área, os animais do tratamento de menor altura do capim Marandu e maior intensidade de pastejo, ou seja, maior taxa de lotação, apresentaram a menor emissão individual de CH₄. Segundo Boland et al. (2009), o aumento do valor nutritivo da planta é altamente correlacionado com a queda de emissão de CH₄, uma vez que a maior taxa de lotação, visando manter a menor altura de pasto, dispõe o maior consumo de folhas jovens, com maiores proporções de carboidratos solúveis e menor proporção de fibra, em função da intensidade de pastejo, o que propicia maior taxa de renovação dos tecidos das plantas.

Em situação de modulações da quantidade de suplemento de acordo com a altura do pasto, a emissão de CH₄ também é reduzida quando expressa em produção individual, por ganho de peso ou consumo de energia metabolizável comparado a animais não suplementados (Barbero et al., 2015). Os autores afirmam que a prática de suplementação reduz a intensidade de emissão de CH₄ (de g CH₄ por kg de ganho de peso) mantendo alto ganho médio diário por animal.

O consumo de matéria seca é diretamente relacionado a produção de CH₄ (Molano e Clark, 2008), ou seja, quanto maior o consumo de matéria seca maior a produção CH₄, porém, os ganhos por animal também são elevados, diluindo os valores de emissão de CH₄ por unidade de produção (Hunter e Neithe, 2009). A taxa de emissão de metano (Y_m) é uma estimativa em pequena escala que pode ser extrapolada para inventários agrícolas, nacionais e globais (Lassey, 2007) e tem relação com o consumo de matéria seca, indicando o gasto de energia bruta consumida para produção de CH₄ pelas *Archeas*.

Forragens de alta digestibilidade tende a reduzir a emissão de CH₄ dos animais em comparação a forrageiras maduras com alta proporção de fibra. Nesse contexto, segue o desafio de produzir pastos de alta qualidade com alta digestibilidade a fim de aumentar a produção animal com emissão reduzida de metano e Y_m, visto que, atualmente há uma grande atenção nas questões ambientais relacionadas ao aumento do efeito estufa, fenômeno natural ocasionado pela concentração de gases

na atmosfera formando uma camada que permitem a passagem de raios solares e absorção de calor.

2.5. Sistemas de terminação em pasto e em confinamento

A pecuária brasileira se caracteriza quase que em sua totalidade em produção extensiva e a terminação em pasto equivale aproximadamente a 87,4% do total produzido no país (ABIEC, 2019), dividida em dois períodos: primavera/verão, período em que os animais ganham peso e outono/inverno, período em que a produção forrageira é limitada resultando em queda de desempenho.

De acordo com IBGE (2018), o peso de carcaça médio de animais zebuínos brasileiro no primeiro trimestre de 2018 foi de 243,6 kg, 3,4% menor que o mesmo período de 2017. Esses animais são abatidos com peso médio de 465kg, rendimento de 52,6% e baixa taxa de desfrute, média de 21% (ABIEC, 2019)

Para contornar essa situação de menor produção forrageira e, menor qualidade, são praticadas estratégias como o confinamento convencional (Bürgi, 2001) e a suplementação dos animais mantido no pasto (Nussio et al., 2001) que, quando fornecido em grande quantidade, superior a 1,2% PC, pode ser chamado de Confinamento Expresso®, no qual a única fonte de volumoso utilizada é a pastagem, sem a necessidade de utilizar forragem conservada, porém, é necessária uma alternativa de destino dos animais para ajuste da taxa de lotação.

No período de outono/inverno, ocorrem alterações fisiológicas na planta forrageira aumentando a lignificação da parede celular influenciando a ingestão de matéria seca do animal. O uso de suplemento tem por objetivo evitar a perda de peso animal em época de escassez de forragem melhorando o desempenho e, aumentando assim a eficiência do sistema. Em confinamento convencional, há o controle do consumo e qualidade nutricional da dieta, que é toda fornecida no cocho. Enquanto no pasto, o consumo de volumoso é incerto, pois existe a dependência da qualidade e ingestão voluntária da matéria seca da forragem pelo animal.

Segundo Medeiros (2014), a antecipação ao abate se dá pelo controle da alimentação e aumento da produtividade. O consumo está diretamente ligado ao desempenho animal (da Silva et al., 2013; Poppi et al., 1987). Alterações no consumo,

digestibilidade e desempenho são dependentes da oferta de concentrado (Pereira et al., 2006).

A fibra em detergente neutro (FDN), em comparação a constituintes não fibrosos, tem fermentação e taxa passagem pelo rúmen-retículo mais lenta, providenciando maior efeito de enchimento ao animal com consequências no consumo voluntário (Allen, 1996). Quando o animal tem a autoridade em selecionar o que irá ingerir, o consumo de alimento é modulado pelo comportamento ingestivo do animal.

A tomada de decisão na escolha do sistema de terminação em que o animal será engordado deve ser feita a partir de planejamentos, uma vez que são necessários investimentos na prática. No confinamento, a alimentação representa cerca de 70% do custo total de produção (Restle e Vaz, 1999) e destes, aproximadamente 2/3 são representados pelo concentrado, justificando estudos com ingredientes alternativos de menor custo.

2.6. Características de carcaça, qualidade da carne e expressão gênica

A demanda pelo aumento da produção de carne e com maior qualidade do produto está em expansão, uma vez que o mercado consumidor se tornou mais exigente e preocupado em obter alimentos mais saudáveis. A nutrição é um dos vários fatores que afetam a qualidade do produto, tendo como uma das principais influências, a redução da idade ao abate (Reis et al., 2011, Barbero et al., 2017).

A força de cisalhamento é diretamente relacionada com a idade do animal (Restle e Vaz, 2002). Com o avanço da idade, a carne torna-se mais resistente ao corte (Luckett et al., 1975) em decorrência da mudança de solubilidade das fibras de colágeno do músculo (Feijó et al., 2011). O sistema de produção também influencia nas alterações de qualidade. Segundo Vaz et al. (2007), animais terminados em confinamento e pasto, de mesma idade, peso ao abate, alimentação e condições sanitárias, apresentaram diferenças na força de cisalhamento, resultados atribuídos pelos autores a solubilidade do colágeno.

Além de alterações positivas no desempenho animal com a inclusão de DDG, as características de carcaça também são afetadas com dietas contendo este coproduto. De acordo com Buckner et al. (2008), o peso de carcaça quente apresentou

efeito quadrático com a inclusão superior a 20% de DDGS na dieta. Benson et. al. (2008) e Klopfenstein et al. (2008), observaram o aumento linear na gordura subcutânea com a inclusão de mais de 35% de DDGS na ração e tendência de redução da marmorização em dietas com mais de 40% de DDGS.

Os mesmos resultados foram encontrados por Corah e McCully (2006), o que pode ser explicado pela menor quantidade de amido presente em grãos de destilaria seco. Outros autores reportaram que a inclusão de grão de destilaria em dietas de terminação não tem efeito no escore de marmorização (May et al., 2010, b; Quinn et al., 2011), área de olho de lombo (Depenbusch et al., 2009; Uwituze et al., 2010) e rendimento de carcaça (May et al., 2010; Quinn et al., 2011).

Grãos da destilaria seco advindos do milho e produzidos nos EUA têm maior concentração de lipídeos e, em destaque, os ácidos graxos insaturados, quando comparados com DDGS do trigo, desta forma é comum observar alterações no perfil de ácidos graxos na carne dos animais suplementados com DDGS proveniente do milho (Shand et al. 1999). Buttrey et al. (2012) reportaram que o uso de DDGS na suplementação de novilhos em fase de recria em pastos de trigo afeta as concentrações de ácidos graxos, reduzindo o teor de 17:0 e aumentando o teor de 18:2. Segundo de Mello Jr. et al. (2008) com o aumento na quantidade de grão de destilaria na dieta de bovinos confinados, há um acréscimo nas concentrações de 18:0, 20:3, CLA e o total de gordura trans.

O aumento do fluxo intestinal de ácidos graxos provenientes da dieta, aumenta o potencial para deposição nos tecidos (Zinn et al., 2000; Gillis et al., 2004). Vander Pol et al. (2009) reportaram que ácidos graxos dos grãos de destilaria não são hidrogenados na mesma extensão no rúmen como os ácidos graxos presentes no óleo de milho, portanto, a inclusão de grão de destilaria em dietas de terminação pode alterar a composição de ácidos graxos da carne bovina (de Mello Jr. et al., 2008; Gill et al., 2008). Vale salientar que os resultados apresentados são oriundos de trabalhos Norte Americanos, onde os grãos de milho, do tipo dentado ou macios, tem alta digestibilidade, enquanto os grãos nacionais são do tipo “flint” ou duro, de amido menos digestível, o que interfere no produto final DDG, além de ser uma metanálise com diferentes raças de bovinos de corte.

No intestino animal, os nutrientes agem como moléculas bioativas que se unem

a receptores e estimulam ou deprimem a expressão de genes, o que afetará o produto final. Nesse sentido, a nutrigenômica, ciência que estuda a interação entre nutrientes presentes na dieta do animal e a expressão dos genes (Neeha e Kinth, 2013), tem ajudado na investigação dos componentes genéticos que influenciam características de interesse. O uso de técnicas de biologia molecular, em pesquisas de nutrição e fisiologia de ruminantes, tem permitido um entendimento vigoroso de como a nutrição pode afetar o desempenho animal em nível celular (Osório e Moisa, 2019).

Dervishi et al. (2011), em estudo sobre o efeito do sistema de produção de cordeiros na expressão de genes relacionados ao metabolismo lipídico, sugerem que, mudanças no perfil dos ácidos graxos fornecidos na alimentação, implicam em mudanças no RNA mensageiro transcrito (RNAm) e consequentemente, na expressão de genes relacionados ao metabolismo de ácidos graxos.

Nos ruminantes, os nutrientes da dieta serão fermentados ou passarão pelo rúmen sem sofrerem alterações (*by pass*). Quando fermentado, o nutriente é aproveitado pela microbiota ruminal e posteriormente, será absorvido pelo intestino, ou transformado em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que será absorvido pela parede ruminal, entrando assim no metabolismo do animal. No caso dos nutrientes *by pass*, estes podem ser convertidos em metabólitos intermediários (Nobel, 2001), produzindo um sinal em cascata para transcrição (Eastwood, 2001), ou ligando-se diretamente a proteínas celulares especializadas, chamados de fatores de transcrição ou receptores nucleares (Jacobs e Lewis, 2002), responsáveis por permitir ou reprimir a ligação entre as enzimas polimerases e o DNA, ativando ou desligando a expressão do gene. Esse conjunto de conhecimentos estimulou a mudança no foco da nutrição animal, já que os nutrientes da dieta podem atuar como moléculas bioativas (Johan e Moisa, 2019), alterando mecanismos moleculares no organismo animal e melhorando assim, o desempenho e eficiência de produção pela interação entre nutriente e gene.

Considerando o conjunto de informações citadas, justifica a necessidade de experimentos no Brasil avaliando o produto na nutrição animal. Além disso, os experimentos citados foram realizados com a adição de DDGS, ou seja, na produção do DDG, antes do processo de secagem, há a reincorporação dos solúveis, o que aumenta a concentração de extrato etéreo no coproduto, causando as alterações citadas na carne. No presente trabalho, na produção do DDG utilizado não há a

reincorporação dos solúveis, desta forma, em sua composição, há um menor teor de extrato etéreo, que caracteriza o DDG desengordurado brasileiro, justificando o uso desse coproduto em experimentos.

3. LITERATURA CITADA

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes (2019). **Perfil da pecuária no Brasil**. Disponível em: <http://www.abiec.com.br/controle/uploads/arquivos/sumario2019portugues.pdf>.

Acesso em: 05 de agosto 2019.

Annison EF, Bryden WL. (1998). Perspectives on ruminant nutrition and metabolism I. Metabolism in the rumen. **Nutr Res Rev.** 11:173-198.

Aidar H, Kluthcouski J (2003) Evolução das atividades lavoureira e pecuária nos cerrados. In: Kluthcouski J, Stone LF, Aidar H (Ed.). **Integração lavoura pecuária**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. p. 25-58.

Allen MS, (1996). Physical constraints on voluntary intake of forages by ruminants. **J. Anim. Sci.**, Savoy, v.74, n.12, p.3063-3075.

Alves JO, Zhuo C, Levendis YA, Tenório JAS (2012). Síntese de nano materiais de carbono a partir do resíduo de milho (DDGs). **Química Nova**, 35:1534-1537.

Al-Suwaiegh S, Fanning KC, Grant RJ, Milton CT and Klopfenstein TJ (2002) Utilization of distillers grains from the fermentation of sorghum or corn in diets for finishing beef and lactating dairy cattle. **J. Anim. Sci.** 80:1105–1111.

Archer S, Smeins FE (1991) Ecosystem-level processes. In: Heitschmidt RK, Stuth JW (Ed.). **Grazing management: an ecological perspective**. Portland: Timber, 1991. p. 109-139.

Arrigoni MB, Martins CL, Barducci RS, Franzói MCS, Vieira Júnior LC, Perdigão A, Ribeiro FA, Factori MA (2013) Níveis elevados de concentrado na dieta de bovinos em confinamento. **Veterinária e Zootecnia**, v.20, n.4, p.539-551.

Barbero RP (2016) **Altura do pasto e suplementação na recria de tourinhos e efeitos sobre a terminação**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal.

Barbero RP, Malheiros EB, Araújo TLR, Nave RLG, Mulliniks JT, Berchielli TT, Ruggieri AC, Reis RA (2015) Combining Marandu grass grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. **Animal Feed Science and Technology**, 209, 110-118.

Barbero RP, Malheiros EB, Nave RLG, Mulliniks JT, Delevatti LM, Hoscheck JFW, Romanzini EP, Ferrari AC, Renesto DM, Berchielli TT, Ruggieri AC, Reis RA (2017) Influence of post-weaning management system during the finishing phase on grasslands or feedlot on aiming to improvement of the beef cattle production. **Agricultural systems**, v. 153, p. 23-31.

Beauchemin KA, Kreuzer M, O'Mara F, McAllister TA (2008) Nutritional management for enteric methane abatement: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture** 48, 21- 27.

Belanche A, Doreau M, Edwards JE, Moorby JM, Pinloche E, Newbold CJ. (2012). Shifts in the rumen microbiota due to the type of carbohydrate and level of protein ingested by dairy cattle are associated with changes in rumen fermentation. **J Nutr.** 142:1684-1692.

Benson CS, Wright CL, Tjardes KE, Nicolai RE, Rops BD (2005) Effects of feeding varying concentrations of dry distiller's grains with solubles to finishing steers on feedlot performance, nutrient management and odorant emissions. **South Dakota Beef Report** 13:59–67.

Berchielli TT, Pires AV, Oliveira SG (2006) **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep.

Berchielli TT, Messana JD, Canesin RC (2012) Produção de metano entérico em pastagens tropicais. **Revista de Saúde e Produção Animal**, v.13, n.4, p.954-968.

Bethard GL, James RE, McGilliard ML (1997) Effect of rumen-undegradable protein and energy on growth and efficiency of growing Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.9, p.2149-2155.

Biricik H, Turkmen II, Deniz G, Gulmez BH, Gencoglu H, Bozan B. (2006). Effects of synchronizing starch and protein degradation in rumen on fermentation, nutrient utilization and total tract digestibility in sheep. **Ital J Anim Sci.** 5:341-348.

Boland TM, Hart KJ, Pierce KM, Lynch BM, McDonnel R, Murphy D, Kelly AK, Kenny DA (2009) The effects of pre-grazing herbage mass on growth rate and methane emissions of grazing beef cattle. **J. Dairy Sci.**, 92 (E-Suppl.1) p 343.

Bothast RJ, Schlicher MA (2005) Biotechnological processes for conversion of corn into ethanol. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** 67:19-25.

Buckner CD, Mader TL, Erickson GE, Colgan SL, Mark DR, Bremer VR, Karges KK, Gibson ML (2008) Evaluation of dry distillers grains plus solubles inclusion on performance and economics of finishing beef steers. **The Professional Animal Scientist.** 24:404-410.

Bürgi R, (2001). Confinamento estratégico. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38., 2001, Piracicaba. Anais... Piracicaba: Sociedade Brasileira Zootecnia, p.276-283.

Buttrey EK, Mccollum FT, Jenkins KH, Patterson JM, Clark BE, Luebke MK, Lawrence TE, MacDonald JC (2012) Use of dried distillers grains throughout a beef production system: Effects on stocker and finishing performance, carcass characteristics, and fatty acid composition of beef. **J. Anim. Sci.** 90:2381-2393.

Carvalho PCF, Trindade JK, Macari S, Fisher V, Poli CHEC, Lang CR (2007) Consumo de forragens por bovinos em pastejo. In: Simpósio Sobre Manejo Da Pastagem, 24., 2007, **Anais...** Piracicaba. Produção de ruminantes em pastagens: anais. Piracicaba: Fealq, p.177-218.

Casagrande DR (2010) **Suplementação de novilhas de corte em pastagem de capim-Marandu submetidos à intensidades de pastejo sob lotação contínua.** Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal.

Casagrande DR, Ruggieri AC, Berchielli TT, Moretti MH, Vieira BR, Roth APTP, Reis RA (2011) Sward canopy structure and performance of beef heifers under supplementation in *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pastures maintained with three grazing intensities in a continuous stocking system. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2074-2082.

Casagrande DR, Azenha MV, Vieira BR, de Resende FD, de Faria MH, Berchielli TT, Ruggieri AC, Reis RA (2013) Performance and carcass quality of feedlot- or pasture-finished Nellore heifers according to feeding managements in the postweaning phase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 42, p. 899-908.

Castillo-Lopez E, Klopfenstein TJ, Fernando SC, Kononoff PJ (2012) In vivo determination of rumen undegradable protein of dried distillers grains with solubles and evaluation of duodenal microbial crude protein flow. **J. Anim. Sci.**, 91:924-934.

Church, D.C. 1990. The ruminant animal: digestive physiology and nutrition. Englewood Cliffs. London. 564 pp.

Corah L, McCully M (2006) Declining quality grades: **A review of factors reducing marbling deposition in beef cattle.** CAB white paper.

Costa KAP, de Oliveira IP, Faquin V (2006) **Adubação nitrogenada para pastagens do gênero *Urochloa* em solos do Cerrado.** Embrapa Arroz e Feijão – Documentos (INFOTECA – E).

Costa N de L, Monteiro ALG, Silva ALP, Moraes A de, Giostri AF, Stivari TSS, Gilaverte S, Baldissera TC, Pin EA (2015) Considerações sobre a degradação da fibra em forragens tropicais associada com suplementos energéticos ou nitrogenados. **Archivos de Zootecnia**, v. 64, n. 247, p. 31-41.

Cotton WR, Pielke RA (1995) **Human impacts on weather and climate.** Cambridge: Cambridge University, 288p.

Davies DR, Theodorou KM, Kingston-Smith AH, Merry RJ. Advances in silage quality in 21st century. ed. Park, R.S.; Strong, M.D. Silage production and utilization. **Proceeding** of XIV International Silage Conference, a satellite workshop. In: International Grassland Congress, 20, Dublin, 2005. Proceedings... Dublin, 2005.

Delevatti LM, Romanzini EP, Koscheck JFW, de Araújo TLR, Renesto DM, Ferrari AC, Barbero RP, Mulliniks JT, Reis RA (2019) Forage management intensification and supplementation strategy: Intake and metabolic parameters on beef cattle production. **Animal Feed Science and Technology**, v.247, p. 74- 82.

Depenbusch BE, Coleman CM, Higgins JJ, Drouillard JS (2009) Effects of increasing levels of dried corn distillers grains with solubles on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of yearling heifers. **J. Anim. Sci.** 87:2653–2663.

Detmann E, Paulino MF, Cecon PR, Valadares Filho SC, Zervoudakis JT, Cabral LS, Leão MI, Lana RP, Ponciano NJ (2005) Níveis de proteína bruta em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante o período de transição seca águas: Consumo voluntário e trânsito de partículas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 1380-1391, 2005.

Dervishi E, Serrano C, Joy M, Serrano M, Rodellar C, Calvo J. (2011).The effect of feeding system in the expression of genes related with fat metabolism in semitendinous muscle in sheep. **Meat Science** 89: 91–97.

de Mello Jr AS, Jenschke BE, Calkins CR (2008) Influence of feeding wet distillers grains on fatty acid composition of beef. in **Nebraska Beef Cattle Report**. MP 91. Univ. Nebraska, Lincoln. p: 120–121.

Eastwood MA. (2001) A molecular biological basis for the nutritional and pharmacological benefits of dietary plants. **Q JM**. 94(1):45-48.

Euclides VPB, Medeiros SR (2005) Suplementação animal em pastagens e seu impacto na utilização da pastagem. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 22. **Anais...**Piracicaba. Teoria e prática da produção animal em pastagens: anais. Piracicaba: Fealq, 2005. p.33-70.

Fagundes FL, Fonseca DM da, Gomide JA, Nascimento Júnior D do, Vitor CMT, Moraes RV de, Mistura C, Reis G da C, Martuscello JA (2005) Acúmulo de forragem em pastos de *Brachiaria decumbens* adubados com nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, p.397-403.

Feijó GLD (2011). Noções de ciência da carne. In: Conhecendo a carne que você consome: **Qualidade da carne bovina**. Curso, I. EMBRAPA / CNPGC. Disponível em: <http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/doc/doc77/03nocoescarne.html> Acesso em: 06 ago. 2019.

Fernandes L de O, Reis RA, Paes JMV (2010) Efeito da suplementação no desempenho de bovinos de corte em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciência e Agrotecnologia**, p. 240-248.

Fonseca NVB, (2018). **Uso de DDGs na terminação de bovinos confinados: Consumo e Digestibilidade**. 38f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

Freiri APA (2015) Desempenho, características de carcaça, produção de metano e metabolismo ruminal em ovinos alimentados com dieta contendo nitrato de cálcio. Tese (Ciência Animal e Pastagens) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Quieroz”. Piracicaba. 114p.

Ganesan V, Rosentrater KA, Muthukumarappan K (2005) Effect of moisture content and soluble levels on the physical and chemical properties of DDGS. In: 2005 ASAE Annual Meeting. **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, p. 1.

Giacomini AA, da Silva SC, Sarmento DO de L, Zeferino CV, Souza Júnior SJ, Trindade JK da, Guarda V del’A, Nascimento Júnior D do (2009) Growth of marandu palisadegrass subjected to strategies of intermittent stocking. **Scientia Agricola**, v.66, p.733-741.

Gibb DJ, Hao X, McAllister TA (2008) Effect of dried distillers’ grains from wheat on diet digestibility and performance in feedlot cattle. Can. **J. Anim. Sci.** 88:659-665.

Gill RK, Vanoverbeke DL, Depenbusch B, Drouillard JS, Dicostanzo A (2008) Impact of beef cattle diets containing corn or sorghum distillers grains on beef color, fatty acid profiles, and sensory attributes. **J. Anim. Sci.** 86:923–935.

Gillis MH, Duckett SK, Sackmann JR (2004) Effects of supplemental rumen-protected conjugated linoleic acid or corn oil on fatty acid composition of adipose tissues in beef cattle. **J. Anim. Sci.** 82:1419–1427.

Grande AP, Santos GTO (2010) **Uso do perfil metabólico na nutrição de vacas leiteiras**. Disponível em: <http://www.universidadedoleite.com.br/imagens/uploads/files/perfil_metabolico_vacas_leiteiras.pdf> Acesso em: 12 de março de 2019.

Ham GA, Stock RA, Klopfenstein TJ, Larson EM, Shain DH, Huffman RP (1994) Wet corn distillers byproducts compared with dried corn distillers grains with solubles as a source of protein and energy for ruminants. **J. Anim. Sci.** 72:3246–3257.

Haryanto B. (2018). Manipulating protein degradability in the rumen to support higher ruminant production. **Wartazoa**. Vol. 24 No. 3 Th. 2014 Hlm. 131-138.

Haryanto B, Jarmani SN. 2010. Performans domba sebagai respons terhadap pemberian pakan mengandung bungkil inti sawit terproteksi molases. Dalam: Prasetyo LH, Natalia L, Iskandar S, Puastuti W, Herawati T, Nurhayati, Anggraeni A, Damayanti R, Dharmayanti N, Estuningsih SE, penyunting. **Teknologi peternakan dan veteriner ramah lingkung dalam mendukung program swasembada daging dan peningkatan ketahanan pangan. Semnas Teknologi Peternakan dan Veteriner**. Bogor, 3-4 Agustus 2010. Bogor (Indonesia): Puslitbangnak. p. 544-549.

Havlin JL, Beaton JD, Tisdale SL, Nelson WL (2005) **Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management**. 7. ed. New Jersey: Pearson. 515 p.

Hegarty RS (2007) Minimising greenhouse gas emissions from the Australian feedlot sector. In 'Beefworks 2007 proceedings'. pp. 99–103.

Histov AN, Oh J, Firkins JL, Dijkstra J, Kebreab E, Waghorn G, Makkar HPS, Adesogan AT, Yang W, Lee C, Gerber PJ, Henderson B, Tricarico JM (2013) Special topics: mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. **Journal of Animal Science**, v.91, p.5045-5069.

Hodgson J, da Silva SC (2002) Options in tropical pasture management. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., Recife. A produção animal e a sociedade brasileira: **Anais..** Recife: Sociedade Brasileira de Zootecnia. p.180-202.

Hoffman A (2019) **Eficiência da Substituição do Farelo de Algodão por Ddgs na Produção de Bovinos de Corte**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal.

Hunter RA, Neithe GE (2009) Efficiency of feed utilisation and methane emission for various cattle breeding and finishing systems. **Recent Advances in Animal Nutrition in Australia** 17,1 –5.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2018). **Estatística da produção pecuária**. Disponível em: file:///C:/Users/userpc/Downloads/abate-leite-couro-ovos_201801caderno.pdf. Acesso em: 06 de agosto 2019.

Intergovernmental Panel on Climate Change. 2019. Emissions from livestock and manure management. In: **2019 Refinement to the 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories**. Vol. 4. Bracknell: IPCC.

Jacobs MN, Lewis DF. (2002) Steroid hormone receptors and dietary ligands: A selected review. **The Proceedings of the Nutrition Society**. 61(1):105-122).

Jouany JP (1994) Manipulation of microbial activity in the rumen. **Archivos of Animal Nutrition**, v.46, p.133–153.

Klopfenstein TJ, Erickson GE, Bremer VR (2008) Board-Invited Review: Use of distillers by-products in the beef cattle feeding industry. **J. Anim. Sci**. 86:1223–1231.

Kluthcouski J, Aida H (2003) **Uso da integração lavoura-pecuária na recuperação de pastagens**. In: Kluthcouski J, Stone LF, Aida H. (Ed.). Integração lavoura-pecuária. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. p. 185-223.

Knapp JR, Laur GL, Vadas PA, Weiss WP, Tricarico JM (2014) Invited review: Enteric methane in dairy cattle production: Quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. **J Dairy Sci**, 97: 3231-3261.

Koscheck JFW (2016). **Intensificação do manejo do pasto e uso da suplementação nos parâmetros produtivos na recria e terminação de bovinos de corte.** Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal.

Lange M, Westermann P, Ahring BK, (2008). Archaea in protozoa and metazoan. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.48, p.114-118.

Lassey KR (2007) Livestock methane emission: from the individual grazing animal through national inventories to the global methane cycle. **Agricultural and Forest Meteorology** 142, 120–132.

Lima MA, Lourenço AJ, Alleoni GF, Demarchi JJAA, Manella MQ, Frighetto RTS (2007) **Influência do Manejo da Produção Animal sobre a Emissão de Metano em Bovinos de Corte.** 44p.

Lodge S, Klopfenstein ST, Stock R, Herold D (1996) **Use of direct fed microbials to alleviate subacute acidosis.** Lincoln: University of Nebraska, Institute of Agriculture and Natural Resource.

Loy TW, Klopfenstein TJ, Erickson GE, Macken C (2008) “Value of Dry Distill Macken. 2008. “Value of Dry Distillers Grains in High-Fiber Diets and Effect of Supplementation Frequency.” **J. Anim. Sci.**, forthcoming.

Luckett RI, Bidner TD, Icaza EA, Turner JW (1975). Tenderness studies in straightbred and crossbred steers. **J. Anim. Sci.** 40:468.

Malafaia P, Cabral LS, Vieira RAM, Magnoli Costa R, Carvalho CAB (2003) Suplementação protéico-energética para bovinos criados em pastagens: Aspectos teóricos e principais resultados publicados no Brasil. **Livestock Research for Rural Development.** 15p.

MacDonald JC, Klopfenstein T J, Erickson GE, Griffin WA (2007) Effects of dried distillers grains and equivalent undegradable intake protein or ether extract on performance and forage intake of heifers grazing smooth brome grass pastures. **J. Anim. Sci.** 85:2614–2624.

Machado FS, Pereira LGR, Guimarães Júnior R, Lopes FCF, Chaves AV, Campos MM, Morenz MJF (2010) **Emissões de metano na pecuária: conceitos, métodos de avaliação e estratégias de mitigação.** Série Documentos Embrapa. 51p.

Mancini RA, Hunt MC (2005) Current research in meat color. **J. Meat Sci.** 71:100–121.

Martha Junior GB, Vilela L (2002) **Pastagens no Cerrado: baixa produtividade pelo uso limitado de fertilizantes em pastagens.** Planaltina: Embrapa Cerrados. 32 p. (Embrapa Cerrados. Documentos, 50).

May ML, Declerck JC, Quinn MJ, Dilozenzo N, Leibovich J, Smith DR, Hales KE, Galyean, ML (2010) Corn or sorghum wet distillers grains with solubles in combination with steam-flaked corn: Feedlot cattle performance, carcass characteristics, and apparent total tract digestibility. **J. Anim. Sci.** 88:2433–2443.

McAllister TA, Okine EK, Mathison GW, Cheng KJ (1996) Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. **Canada Journal Animal Science**, v.76, p.231-243.

McGinn SM, Beauchemin KA, Coates T, Colombatto D (2004) “Methane emissions from beef cattle: effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid,” **Journal of Animal Science**, vol. 82, no. 11, pp. 3346–3356.

Medeiros SR, (2014). **Como o boi funciona: Terminação em pasto ou confinamento.** Disponível em: <<http://sites.beefpoint.com.br/sergioraposo/2014/05/09/como-o-boifunciona-terminacao-em-pasto-ou-confinamento/>> Acessado em: 15 de abril de 2019.

Mertens DR, (1992). Análise de Fibra e Sua Utilização na Avaliação E Formulação de Rações. In: Simpósio Internacional de Ruminantes, Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 29., Lavras. **Anais...** Lavras: Sbz. P.188-219.

Mesquita P de, da Silva SC, Paiva AJ, Caminha FO, Pereira LET, Guarda V del’A, Nascimento Júnior D do (2010) Structural characteristics of marandu palisadegrass swards subjected to continuous stocking and contrasting rhythms of growth. **Scientia Agricola**, v.67, p.23-30.

Mjoun K, Kalscheur KF, Hippen AR, Schingoethe DJ (2010) Performance and amino acid utilization of early lactation dairy cows fed regular or reduced-fat dried distillers grains with solubles. **J. Dairy Sci.** v. 93, n. 7, p. 3176-3191.

Molano G, Clark H (2008) The effect of level of intake and forage quality on methane production by sheep. **Australian Journal of Experimental Agriculture** 48, 219–222.

Moore JE (1980) **Forage crops**. In: HOVELAND, C.S. (Ed.). Crop quality, storage, and utilization. Madison: Crop Science Society of America.

Moore JE, Brant MH, Kunkle WE, Hopkins DI (1999) Effects of supplementation on voluntary forage intake, diet digestibility, and animal performance. **Journal of Animal Science**. Suppl. 2. v.77, p.122-135.

Moretti MH, Reis RA, Casagrande DR, Ruggieri AC, Oliveira RV, Berchielli TT (2011) Suplementação protéica energética no desempenho de novilhas em pastejo durante a fase de terminação. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 3, p. 606-612.

Morgavi, DP, Jouany, JP, Martin, C (2008) Changes in methane emission and rumen fermentation parameters induced by refaunation in sheep. **Australian Journal of Experimental Agriculture** 48, 69–72.

Moss AR, Jouany JP, Newbold J, (2000). Methane production by ruminants: its contribution to global warming. In **Annales de zootechnie**, EDP Sciences. Vol. 49, No. 3, pp. 231-253).

Neeha VS, Kint P. (2013) Nutrigenomics research: A review. **Journal of Food Science and Technology**. 50(3):415-428. DOI: 10.1007/s13197-012-0775-z

Nobel S, Abrahmsen L, Oppermann U. (2001) Metabolic conversion as a prereceptor control mechanism for lipophilic hormones. **European Journal of Biochemistry**. 268(15):4113-4125. DOI: 10.1046/j.1432-1327.

Noll JD, Janisko S (2007) Using laser absorption techniques to monitor diesel particulate matter exposure in underground stone mines. *Proc. of SPIE*, 8(47), vol 6759.

Nussio LG, Campos FP, Mnzano RP, (2001). Volumosos suplementares na produção de bovinos de corte em pastagens. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...**Piracicaba: Sociedade Brasileira Zootecnia, p.253-275.

Nussio LG, Campos FP, Lima MLM, (2006) Metabolismos de carboidratos estruturais. In: **Nutrição de ruminantes**. 2 ed. Jaboticabal: SP, cap. 7, p.183- 223.

Oliveira AA (2014) **Manejo do pasto de capim-marandu e suplementação com diferentes fontes de energia na recria de tourinhos nelore**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal.

Oliveira VS, Santana Neto JA, Valença RL (2013) Características químicas e fisiológicas da fermentação ruminal de bovinos em pastejo – revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano XI, n.20.

Oliveira RC, Igarasi MS (2013) Utilização de óleos essenciais na mitigação da metanogênese. *PUBVET*, v.7, n.6.

Oliveira V da S, NETO JAS, Valença R de L, dos Santos ACP (2017) Estratégias para mitigar a produção de metano entérico. **Veterinária Notícias Veterinary News**, v. 23, n. 1. 32p.

Osorio JS, Moisa SJ, (2019). Gene Regulation in Ruminants: A Nutritional Perspective. In **Gene Expression and Control**. IntechOpen. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.82193>

Peixoto PV, Malafaia P, Miranda LV, Canella CFC, Canella Filho CFC, Vilas Boas FV (2003) Eficiência reprodutiva de matrizes bovinas de corte submetidas a três diferentes tipos de suplementação mineral. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 23 (3). 125-130.

Pereira DH, Pereira OG, Valadares Filho SC, Garcia R, Oliveira AP, Martins FH, Viana V, (2006). Consumo, digestibilidade dos nutrientes e desempenho de bovinos de corte recebendo silagem de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) e diferentes proporções de concentrado. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 35, n. 1, p. 282-291.

Poppi DP, McLennan SR (1995) Protein and energy utilization by ruminants at pasture. *Journal of Animal Science*, v.73, p.278-290.

Quinn MJ, May ML, Dilozenzo N, Ponce CH, Smith DR, Parr SL, Galyean ML (2011) Effects of roughage source and distillers grain concentration on beef cattle finishing performance, carcass characteristics, and in vitro fermentation. *J. Anim. Sci.* 89:2631–2642.

Ramalho TRA (2006) **Suplementação protéica ou energética para bovinos recriados em pastagens tropicais**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Piracicaba - SP.

Reinhardt CD, Dicostanzo A, Milliken G (2007) Distillers byproducts alters carcass fat distribution of feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 85(Suppl. 2):132. (Abstr.).

Reis RA, Ruggieri AC, Casagrande DR, Pascoa AG (2009) Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, p.147159.

Reis RA, Oliveira AA, Siqueira GR, Gatto E, (2011) Semi-confinamento para produção intensiva de bovinos de corte. In: Simpósio Matogrossense de Bovinocultura de Corte, 1, Cuiabá, MT. *Anais...* p.195-222.

Resende FD, Sampaio RL, Siqueira GR, Reis RA, Faria M, Ferreira L (2008) Estratégias de suplementação na recria e terminação de bovinos de corte. Efeitos do nível de suplementação na recria sobre o desempenho na terminação. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECHNIA, 45., 2008, Lavras. *Anais...* Lavras: UFLA, (CD-ROM).

Restle J, Vaz FN (2002). **Tendências de mercado e entraves tecnológicos para a cadeia produtiva da carne bovina**. In: MELLO, N.A.; ASSMAN, T.S. Encontro de 24 integração lavoura-pecuária no Sul do Brasil, 1., 2002. Pato Branco: IAPAR/CEFET, p.167-188.

Rezende CF, Casagrande DR, Reis RA (2009) "Histórico de diferentes tipos de suplementação e de estratégia de manejo do pastejo na fase de recria sobre o desempenho na fase de terminação de novilhas Nelore." **REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECHNIA**. Maringá 46.

Rivera AR, Berchielli TT, Messana JD, Velasquez PT, Franco AVM, Fernandes LB (2010) Fermentação ruminal e produção de metano em bovinos alimentados com feno de capim-tifton 85 e concentrado com aditivos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, p.617-624.

Roeber DL, Gill RK, DiCostanzo A, (2005) Meat quality responses to feeding distillers grains to finishing Holstein steers. **J. Anim. Sci.** 83:2455–2460.

Santana MCA, (2006) **Suplementação com diferentes níveis e fontes de energia para recria de novilhos em pastagens**. 2006. Tese de Doutorado -Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 81p.

Shand PJ, Mckinnon JJ, Christenson DA (1998) Eating quality of beef from animals fed wet brewers' grains and wheat-based wet distiller's' grains. Can. **J. Anim. Sci.** 78:143-146.

Seal CJ e Parker DS (1994). Effect of intraruminal propionic acid infusion on metabolism of mesenteric-and portal-drained viscera in growing steers fed a forage diet: I. Volatile fatty acids, glucose, and lactate. **Journal of Animal Science**, 72(5), 1325-1334.

Siebert BD, Hunter RA (1982) Supplementary feeding of grazing animals. In: HACKER, J.B. (ed.). **Nutritional limits to animal production from pasture**. Commonwealth Agricultural Bureau. Farnham Royal. p. 409-425.

Silva SC (2004) Fundamentos para o manejo do pastejo de plantas forrageiras dos gêneros *Brachiaria* e *Panicum*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO ESTRATÉGICO DA PASTAGEM, 2., Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: UFV. p. 347-385.

Singh RS, Raghubanshi AS, Singh JS (1991) Nitrogen mineralization in dry tropical savanna: effects of burning and grazing. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v. 23, n. 3, p. 269-273.

Sollenberger LE, Cherney DJR (1995) Evaluating forage production and quality. **The Science of Grassland Agriculture**. Ames: Iowa State University Press, p. 97-110.

Spiehs MJ, Whitney MH, Shurson GC (2002) Nutrient database for distiller's dried grains with solubles produced from new ethanol plants in Minnesota and South Dakota. **J Anim. Sci.** 80:2639-2645.

Stein HH, Shurson GC (2009). Board-Invited Review: The use and application of distillers dried grains with solubles in swine diets. **J. Anim. Sci.** 87:1292-1303.

Stock RA, Lewis JM, Klopfenstein TJ, Milton CT (2000) Review of new information on the use of wet and dry milling feed by-products in feedlot diets. **Proc. Am. Soc. Anim. Sci.** p.13.

Swanson KC, Redmer DA, Reynolds LP, Caton JS (1999) Ruminally udegraded intake protein in sheep fed low-quality forage: effect of weight, growth, cell proliferation, and morphology of visceral organs. **Journal of Animal Science**, v.77, p.198-205, 1999.

Swietkiewicz S, Koreleski J, (2008) The use of distillers dried grains with solubles (DDGS) in poultry nutrition. **World's Poultry Sci. Assoc.** 64, 257–265.

Thiago LRL de S, Silva JM da. **Suplementação de bovinos em pastejo**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001.

Tjardes J, Wright C (2002) Feeding corn distiller's co-products to beef cattle. **SDSU Extension Extra**. ExEx 2036, Dept. of Animal and Range Sciences. p. 1-5.

Trindade JK da, da Silva SC, Souza Júnior SJ de, Giacomini AA, Zeferino CV, Guarda V del'A, Carvalho PCF de (2007) Composição morfológica da forragem consumida por bovinos de corte durante o rebaixamento do capim-marandu submetido a estratégias de pastejo rotativo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.883-890.

USGC, U.S Grains Council. (2012). **A guide to distiller's dried grains with solubles (DDGs User Handbook)**. Third Edition. <http://www.grains.org/index.php/buying-selling/DDGsuserhandbook> Acesso em 15 de março de 2019.

Uwituze S, Parsons GL, Shelor MK, Depenbusch BE, Karges KK, Gibson ML, Reinhardt CD, Higgins JJ, Drouillard JS (2010) Evaluation of dried distillers grains and roughage source in steam-flaked corn finishing diets. **J. Anim. Sci.** 88:258–274.

Vander Pol KJ, Luebbe MK, Crawford GI, Erickson GE, Klopfenstein TJ (2009) Performance and digestibility characteristics of finishing diets containing distillers grains, composites of corn processing coproducts, or supplemental corn oil. **J. Anim. Sci.** 87:639– 652.

Vieira BR (2011) **Manejo do pastejo e suplementação nas águas e seus efeitos em sistemas de terminação de novilhas na seca**. 2011 139 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, Jaboticabal.

Werner JC (1986) **Adubação de pastagens**. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia. 49 p. (Boletim Técnico, 18).

Weigel JC, Loy D, Kilmer L (1997) **Feeding co-products of the dry corn milling process**. Renewable Fuels Association and National Corn Growers Association. Washington, D.C. and St. Louis, MO, 8.

Whitehead DC (1995) Volatilization of ammonia. In: Whitehead DC (Ed.). **Grassland nitrogen**. Wallingford: CAB International, 1995. p. 152-179.

Wyman CE (1996). **Handbook on bioethanol: production and utilization**. Applied Energy Technology Series, Taylor & Francis, Washington.

Zervoudakis JT, Silva LCRP, Silva RP, Jose Neto A, Werner JFK, Silva RGF (2011). Otimização do desempenho de bovinos por meio da suplementação à pasto. **Simpósio Matogrossense de Bovinocultura de Corte**, 1, 151-189.

CAPÍTULO 2 – METABOLISMO E DESEMPENHO DE TOURINHOS NELORE SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES APORTES NUTRICIONAIS NA RECRIA E SEUS IMPACTOS NA MITIGAÇÃO DE METANO ENTÉRICO.

RESUMO - O objetivo do trabalho foi estudar o efeito de suplementos de diferentes aportes nutricionais nos parâmetros metabólicos de tourinhos, desempenho animal e produção de gás metano. Foram avaliados três suplementos: FS) suplemento múltiplo (proteico-energético – PE) com milho e farelo de soja; SE) suplemento energético e SD) suplemento PE com DDG fornecidos a 0,3% do peso corporal (PC) associados a pastagem de capim Marandu. Foram feitas avaliações de metabolismo (pH e concentrações de nitrogênio amoniacal, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), quantificação das concentrações urinárias de creatinina e alantoína, síntese de proteína microbiana e balanço de nitrogênio) em 6 bovinos Nelore, castrados e canulados no rúmen, bem como a determinação do consumo e a digestibilidade dos nutrientes. Os animais foram distribuídos em 6 piquetes (2 por tratamento), em delineamento quadrado latino duplo incompleto. Concomitante ao experimento de parâmetros ruminais, 60 tourinhos Nelore foram distribuídos em 9 piquetes (3 por tratamento) para a determinação do desempenho animal. Destes 60 animais, 18 foram utilizados para a determinação da emissão de metano (seis animais por tratamento). A análise estatística utilizada no experimento de desempenho e emissão de metano foi o delineamento inteiramente casualizado. As análises dos dados foram realizadas por meio do pacote estatístico SAS (2008), versão 9.2, como modelos mistos pelo PROC MIXED. Os suplementos foram considerados como efeitos fixos e os piquetes com efeito aleatório. Para comparação de médias foi utilizado o teste Tukey usando a opção PDIF no comando LSMEANS, sendo as mesmas consideradas diferentes quando $p < 0,05$. Não houve diferença no consumo, digestibilidade dos nutrientes, parâmetros ruminais, produção de proteína microbiana, desempenho e produção de metano por dia. Os animais do tratamento SD apresentaram menor excreção de nitrogênio na urina e os animais do tratamento SE apresentaram maior produção de metano por kg de MS consumida. O uso de suplemento PE com DDG e energético com milho podem ser usados como substitutos a suplementação PE com farelo de soja sem causar efeito negativo no desempenho animal. O uso de suplemento energético em associação a pastos com altos teores de proteína solúvel não altera utilização de nitrogênio ruminal e a PNDR presente no DDG diminuem as excreções de nitrogênio pela urina e a suplementação múltipla diminuem o rendimento e o Ym.

Palavras – chave: DDG, energético, suplemento múltiplo

CHAPTER 2 – METABOLISM AND PERFORMANCE OF NELORE YOUNG BULLS FED WITH DIFFERENTS NUTRITIONAL APORTS ON POST- WEANING PHASE AND IT EFFECTS ON DEGREASE METHANE EMISSION.

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate the effect of different nutritional supplements on metabolic parameters, animal performance and methane gas production of Nellore bulls. Three supplements were tested: SB) soybean meal supplement; SE) energy supplement and SD) supplement with DDG used at 0.3% BW associated with Marandu grass pasture. In the ,metabolism experiment we evaluate pH, rumen ammonia nitrogen, short chain fatty acids (AGCC), quantitation of urinary creatinine and allantoin, microbial protein synthesis, nitrogen balance, nutrient intake and digestibility. The experiment was performed using six Nellore cattle cannulated on rumen distributed in six paddocks (2 per treatment), in incomplete double Latin square design. Concomitant with the metabolism experiment, 60 Nellore young bulls were distributed in 9 paddocks (3 per treatment) for determination of animal performance, while methane production was evaluated in 18 animals (six animals per treatment). Data of animal performance and methane production was analyzed according to a completely randomized designed using the SAS (2008) version 9.2 statistical package using mixed models by PROC MIXED. The data analyzes were performed considering the supplements as fixed effects and paddocks from random effect. For media comparison, the Tukey test was used, using the PDIFF option in the LSMEANS command, and the same ones were used when $p < 0.05$. There was no difference between nutrient intake, digestibility, ruminal parameters, microbial protein production, performance and methane production per day. Animals from SD treatment had lower urine nitrogen excretion, and those from SE treatment had higher methane production per kg of DM intake and Y_m . The use of protein energy with DDG, and corn energy supplements can replace soybean conventional supplementation without causing any negative effect on ruminal parameters and performance. The use of energy supplement in combination with pastures with high soluble protein content does not alter the use of rumen nitrogen, while rumen undegradable protein in DDG decrease urine nitrogen excretion. Multiple supplementation increases yield and Y_m when compared to multiple supplements.

Keywords: DDG, energy, multiple supplements

1. INTRODUÇÃO

Na estação chuvosa, pastos adubados e bem manejados apresentam elevada oferta de folhas verdes e alta fração da proteína de rápida degradação ruminal (Santos et al., 2007; Delevatti, et al., 2019). O manejo de pastagens a 25 cm de altura proporciona pastos com elevada oferta de lamina foliar, que apresentam alta quantidade de frações proteicas digestíveis (proteína degradável no rúmen – PDR), fibra em detergente neutro potencialmente digestível e baixos teores de fibra em detergente neutro indigestível (FDNi) (Casagrande, 2010; Barbero, et al., 2015; Hoffman, 2019). Nesse caso, uso de suplementos energéticos ou múltiplos (proteico – energéticos) com fonte de proteína não degradável no rúmen (PNDR) são utilizados com finalidade metabólica (Detmann et al., 2015), garantindo assim, o sucesso do sistema.

De acordo com Reis et al. (2009), Oliveira (2014) e Barbero et al. (2015), o uso de suplemento durante estação chuvosa, proporciona respostas expressivas no ganho de peso animal devido aos teores de energia e proteína disponível no ambiente ruminal. O fornecimento de energia prontamente disponível via suplemento pode maximizar a síntese de proteína microbiana (Poppi e McLennan, 1995; Detmann et al., 2014) e reduzir as perdas de nitrogênio para o meio ambiente. Casagrande et al. (2011) afirmam que o suplemento energético nessas condições, permite o crescimento e síntese de proteína microbiana a partir do sincronismo entre a energia prontamente disponível do suplemento e a proteína de rápida degradação proveniente da forrageira.

Outra vantagem da suplementação múltipla é a redução das perdas energéticas metabólicas, pois quando o suplemento é formulado considerando as características nutricionais do pasto, podem reduzir a emissão de gás metano (CH₄) através do aumento da produção de propionato no rúmen, melhoria na eficiência de uso da fração fibrosa e, conseqüentemente aumento no ganho de peso (Poppi e McLennan, 2007). No Brasil, a principal fonte de alimento para grande parte da criação de bovinos é o pasto (Lima, 2002) que, devido sua composição química, os produtos da digestão favorecem a produção de CH₄ (Pedreira, 2004). Segundo Bernt (2010), pasto bem manejados, que permitem melhoras na digestão da fibra (Moore et al., 1999, Barbero et al., 2015), em associação a suplementos concentrados, reduzem perdas

de nitrogênio no rúmen (Moore et al., 1999, Detmann et al., 2014) e diminuem a produção de CH₄ por animal. A suplementação múltipla reduz a emissão de CH₄ quando comparado com animais que recebem suplementação mineral (Barbero et al., 2015; Koscheck, 2016), chegando a reduções de 36% (Koscheck, 2016) e 40% (Barbero et al., 2015) na emissão de CH₄, sustentando a eficiência da suplementação na redução de metano entérico.

A hipótese do estudo é que o uso de suplemento energético em associação a pastos de alta qualidade (com alta porcentagem de proteína bruta e baixa proporção de frações indigestíveis) otimizam a utilização de nitrogênio ruminal, diminuindo sua excreção devido ao estabelecimento do adequado balanço proteico e energético no rúmen que permite aumentar a produção de proteína microbiana, enquanto o uso de suplemento rico em PNDR aumentam a proteína que chega ao intestino delgado promovendo ganhos no desempenho animal, além disso, a suplementação múltipla tem maior eficiência na mitigação de metano entérico e, mesmo com diferentes aportes nutricionais, os parâmetros ruminais apresentam mesmo comportamento entre os suplementos em estudo. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi avaliar o impacto de suplementos de diferentes aportes nutricionais nos parâmetros metabólicos, desempenho animal e produção de gás metano de tourinhos Nelore suplementados em pastagens no período das águas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos adotados neste estudo estão de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), em reunião ordinária em 7 de agosto de 2015 (Protocolo nº 12703/15).

2.1. Área experimental e método de pastejo

O experimento foi conduzido nas instalações do Setor de Forragicultura pertencente ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e

Veterinárias da Universidade Estadual Paulista em Jaboticabal, São Paulo, Brasil (21°15'22'' S latitude, 48°18'58'' 77 W longitude e 595 m). O clima típico da região é subtropical úmido, com inverno seco e verão chuvoso (Tabela 1). A área experimental foi de 9 hectares (ha) constituída de capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, dividida em 9 piquetes manejados em lotação contínua, carga variável na altura de pasto de 25 cm. O experimento teve início em dezembro de 2016 e fim em abril de 2017.

Tabela 1. Dados climáticos em Jaboticabal, SP no período experimental de recria (dez. /2016 a abr./2017).

(dez./2016 a abr./2017):					
2016/2017	Temperatura (°C)				Dias de
Dia	Máxima	Mínima	Média	Chuva (mm)	Chuva
Experimento recria					
Adaptação 06/dez. a 20/dez	30,57	19,29	23,86	72,20	14
21/dez a 16/jan.	31,15	19,89	24,80	130,20	13
17/jan. a 13/fev.	30,17	19,67	23,84	204,40	13
14/fev. a 13/mar.	31,98	19,97	25,05	68,60	13
14/mar. a 07/abr.	30,81	17,70	23,78	158,10	5
Coleta metano					
08/abr. a 30/abr.	29,26	17,73	22,54	33,10	4

Fonte: Os elementos meteorológicos utilizados neste trabalho foram extraídos de um conjunto de dados pertencentes ao acervo da área de Agrometeorologia do Departamento de Ciências Exatas. As observações feitas na Estação Agroclimatológica do Campus de Jaboticabal são cotadas, digitadas em formato padronizado, realizada a consistência e controle de qualidade. Em seguida são obtidas as médias diárias, mensais e anuais que são repassadas aos usuários.

Conforme recomendações de Werner et al. (1996), considerando os resultados obtidos em análise de solo a fim de corrigir a saturação por base a 60%, não foi necessária a aplicação de calcário. Foram aplicados 180 kg/ha de nitrogênio em forma de ureia, divididas em 3 doses de 60 kg N.ha⁻¹, aplicados no início de dezembro de 2016, no fim de janeiro de 2017 e no início de março de 2017. Os pastos foram manejados a 25 cm de altura em sistema de manejo de lotação contínua e taxa de lotação variável segundo a técnica de pastejo “*put and take*” (Mott e Lucas, 1952), manejando juntamente animais fistulados, de avaliação de desempenho e reguladores para manter a altura do pasto pré-estabelecida. Todos os piquetes foram manejados de forma a terem a mesma altura.

2.2. Tratamentos e período experimental

Foram utilizados seis novilhos *Bos taurus indicus* da raça Nelore, canulados no rúmen, com peso corporal inicial médio de $289,5 \pm 19,62$ kg para avaliação de parâmetros ruminais em duplo quadrado latino e 60 tourinhos *Bos taurus indicus* Nelore, com peso inicial médio de $251 \pm 13,02$ kg na avaliação de desempenho. Os animais foram mantidos em 9 piquetes formados com capim Marandu (*Urochloa brizantha* cv. Marandu), sendo três piquetes por tratamento totalizando 3 ha por tratamento. Os animais fistulados utilizados no duplo quadrado latino foram distribuídos nos três tratamentos e duas repetições (piquetes, dois animais por tratamento, um animal por piquete) e os animais do experimento de desempenho foram mantidos nos mesmos três tratamentos em três repetições de piquete (piquetes, 23 animais por tratamento, dois piquetes com nove animais e um piquete com cinco animais), ambos avaliados durante quatro períodos experimentais de 28 dias cada.

Os animais fistulados, em cada período experimental do quadrado latino, foram adaptados à dieta durante os primeiros 14 dias e os demais dias destinados a determinação do consumo e digestibilidade, pH, concentrações de nitrogênio amoniacal, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), bem como quantificação das concentrações urinárias de creatinina e alantoína, síntese de proteína microbiana e balanço de nitrogênio.

Os tratamentos estudados foram: FS) suplemento múltiplo (proteico-energético) com milho como fonte energética e farelo de soja como fonte proteica; SE) suplemento energético a base de milho e SD) suplemento múltiplo com milho como fonte energética e substituição de 100% da fonte proteica (farelo de soja) por DDG (41,32% de DDG na MS) fornecidos a 0,3% PC. A composição dos suplementos está descrita na Tabela 2.

Tabela 2. Composição dos suplementos utilizados na recria de tourinhos Nelore em pastos de capim Marandu durante o período das águas (2016/2017).

<i>Ingrediente</i>	<u>Suplementos</u>		
	FS	SE	SD
<i>Ingredientes (% MS)</i>			
DDG Milho	-	-	41,32
Milho Moído	62,64	91,78	46,60
Soja Farelo	24,15	-	-
¹ Núcleo mineral	13,21	8,21	12,07
Total	100,00	100,00	100,00
<i>Composição química dos suplementos (% MS)</i>			
FDNcp (%)	31,20	39,91	44,37
FDNi (%)	4,34	3,84	5,69
CNF (%)	31,32	64,00	34,65
NDT (%)	68,22	73,71	70,07
EE (%)	2,74	3,48	5,08
PB (%)	16,05	7,08	16,02
PDR (%)	64,22	59,22	58,65
PNDR (%)	35,78	40,78	41,35
Fração A (% PB)	18,09	23,27	13,41
Fração B1 (% PB)	10,37	3,64	6,34
Fração B2 (% PB)	65,82	57,50	71,45
Fração B3(% PB)	2,12	11,65	1,46
Fração C (% PB)	3,60	3,94	7,34

FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; ¹Níveis de garantia: FS: 26 g/kg Ca; 10 g/kg P; 5,2 g/kg S; 14 g/kg Na; 48,76 mg/kg Cu; 62,19 mg/kg Mn; 184,68 mg/kg Zn; 3,00 mg/kg I; SE: 1,99% Ca; 0,40% P; 0,62% S; 0,70% Na; 30,06 mg/kg Cu; 33,19 mg/kg Mn; 116,25 mg/kg Zn; 1,81 mg/kg I; SD: 2,37% Ca; 1,00% P; 0,89% S; 1,30% Na; 49,11 mg/kg Cu; 64,10 mg/kg Mn; 186,20 mg/kg Zn; 3,01 mg/kg I; Monensina 200 = 80 g/kg produto.

2.3. Massa e características morfológicas e nutricionais do pasto

A altura do pasto foi mensurada semanalmente, medindo na curvatura das folhas superiores com régua graduada em centímetros, totalizando 80 pontos por hectare. Para estimativa da massa de forragem, quatro amostras foram colhidas por corte nos pontos médios em cada piquete, usando moldura circular de 0,25 m². As

amostras foram separadas quanto às frações morfológicas: material morto, colmos mais bainhas e folhas verdes, secos em estufa ($55 \pm 5^\circ \text{C}$ por 72 h) para estimativa da massa seca por hectare.

2.4. Valor nutritivo

Para estimar o valor nutritivo da forragem, amostras foram colhidas usando a técnica da simulação manual de pastejo (Sollenberger et al., 1995). As amostras foram secas em estufa de circulação de ar forçado ($55 \pm 5^\circ \text{C}$, por 72 h), moídas em moinho (Thomas-Wiley Laboratory Mill Model 4, H. Thomas Co.) em partículas de $\pm 1 \text{ mm}$, identificadas e encaminhadas para análises laboratoriais. Os teores de matéria seca (MS) foram determinados conforme procedimentos descritos em AOAC (1990). A proteína bruta (PB) foi determinada utilizando aparelho LECO® FP 528 (Leco corporation, Michigan, USA). A energia bruta (EB) foi obtida utilizando bomba calorimétrica adiabática (PARR Instrument Company 6300, Illinois, USA), dada em megajoule (MJ).

As amostras frescas foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 55°C por 72 horas. Após a pré - secagem, todas as amostras de forragem, bem como dos suplementos foram processadas em moinho do tipo Willey, com peneira de malha com crivo de 1mm, exceto as destinadas a análises de FDNi (fibra em detergente neutro indigestível) que foram moídas em 2mm, conforme Casali et al. (2008). O fracionamento da proteína foi realizado de acordo com Licitra et al. (1996) e o de carboidratos de acordo com Sniffen et al. (1992). Foram estimados os teores de carboidratos não fibrosos (CNF) dos suplementos, bem como fibra em detergente neutro potencialmente digestível (FDNpd) através da obtenção da FDNi por procedimento de incubação in situ por 240 horas (Casali et al., 2008), tabela 3.

As amostras foram quantificadas quanto aos teores de matéria seca (MS), material mineral (MM), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB) de acordo com a AOAC (1990). As avaliações de FDN e FDA foram realizadas no aparelho Ankon 2000 (Ankom Technologies, Macedon, NY). Foram ainda determinados o conteúdo de FDN dos concentrados, tratados com amilase termoestável (Van Soest, 1991), a FDN, FDA, FDNcp, lignina (H_2SO_4 72%), NIDN e

NIDA da forragem (Robertson e Van Soest, 1981 e Licitra et al., 1996).

2.5. Consumo e digestibilidade dos nutrientes

Para as avaliações do consumo individual de concentrado, este foi fornecido diretamente ao rúmen, através de cânula ruminal, garantindo o consumo de 0,3% PC, por volta das 10h30. Os animais foram retirados dos piquetes, levados ao curral de manejo enquanto o suplemento foi fornecido aos animais testers destinados ao experimento de desempenho, evitando assim que os animais canulados consumissem possíveis sobras. Foram realizadas pesagens sem jejum a cada 28 dias para ajustes da quantidade de suplemento a ser fornecida.

O consumo de forragem foi estimado com base nos dados de produção fecal e da FDNi como marcador interno. Para estimativa da produção fecal foi utilizado o óxido de cromo (Cr_2O_3) fornecidos em cartuchos de papel acondicionados diretamente na cânula ruminal. Dentre os 10 dias de fornecimento do marcador os sete primeiros foram para adaptação do animal pelo marcador e os três finais de coleta de fezes nos diferentes tempos (7, 9, 11, 13, 15 e 17 horas) divididos em três dias (1º dia: 7 e 13 horas; 2º dia: 9 e 15 horas e 3º dia: 11 e 17 horas). Na estimativa do teor de FDNi nas fezes, as amostras foram incubadas *in situ* por 240 horas (Casali et al., 2008) e depois extraídos com detergente neutro.

2.6. Parâmetros ruminais

A determinação do pH, concentração de nitrogênio amoniacal e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) foram realizadas, em cada um dos quatro períodos, nos tempos 0 (momento antes da suplementação), 3, 6, 9 e 12 horas após a suplementação dos animais fistulados e dividido os horários em 2 dias de coletas, o primeiro dia, os horários 0, 6 e 12 horas e o segundo, 3 e 9 horas, a fim de reduzir o tempo de permanência dos animais fora dos piquetes e minimizar alterações de comportamento ingestivo.

O tempo pré suplementação, corresponde à amostragem momento antes do fornecimento do suplemento e os demais representam amostragem após o horário de

refeição. O líquido ruminal foi coletado na interface sólido-líquido do ambiente ruminal, filtradas em camada tripla de gaze para avaliação imediata de pH com peagâmetro digital calibrado com tampões pH 7,0 e 4,0. Em seguida, foi separada uma alíquota de 50 mL, devidamente adicionados 1 mL de ácido sulfúrico (1:1) e conservadas em freezer – 20°C para posteriores análises laboratoriais de AGCC e nitrogênio amoniacal. O AGCC foi determinado segundo indicações do método de Famme e Knudsen (1984), em cromatógrafo a gás (modelo CG 270, Instrúmentos Científicos CG Ltda.) e as concentrações de nitrogênio amoniacal ruminal foi determinado pelo método Kjehdal (AOAC, 1990 – ID 954.01) com NaOH 2M de acordo com Fenner (1965).

2.7. Eficiência microbiana e balanço de nitrogênio

As coletas de urina foram feitas na forma de amostra spot em micção espontânea dos animais momentos antes da suplementação, a qual foi fornecida diretamente no rúmen a fim de garantir a quantidade de suplemento ingerido pelo animal. As amostras foram filtradas em camada tripla de gaze e foram conservadas em freezer – 20°C para posteriores análises de quantificação das concentrações urinárias de creatinina, derivados de purina, alantoína e ácido úrico.

Foi estimada excreção diária de compostos nitrogenados (creatinina e derivados de purina), teores urinários de alantoína foram estimados por método colorimétrico (Chen e Gomes, 1992) e os cálculos de volume urinário foram feitos de acordo com a equação proposta por Chizzotti et al. (2006). O nitrogênio absorvido (NABS), expresso em g/dia foi obtido pela diferença entre o nitrogênio consumido (NC) e o excretado nas fezes (ENF) enquanto o balanço de nitrogênio (BN) foi calculado pelo nitrogênio consumido, o excretado pelas fezes e urina, dado em g/dia.

2.8. Desempenho dos animais

O ganho médio diário dos animais foi obtido por meio das pesagens no início e no final da fase de recria, após jejum prévio alimentar e hídrico de 14 horas. Foram realizadas pesagens a cada 28 dias com os animais sem jejum para ajuste do

fornecimento de concentrado e cálculo da taxa de lotação. O ganho por área foi calculado com base nos ganhos individuais médios dos animais *testers*, e o número de animais *testers* e reguladores em cada piquete durante o período avaliado, calculando-se o número de animais/dias (Mott e Lucas, 1952). Os animais usados como reguladores entraram nos cálculos da taxa de lotação e ganho por área considerando os dias de ocupação destes em cada piquete. O peso corporal total dos animais de cada piquete, em cada período determinado, permitiu determinar a taxa de lotação em unidades animal por hectare (450 kg PC ha⁻¹), bem como a oferta de MS total e de lâminas foliares.

2.9. Metano entérico

As avaliações das emissões de metano iniciaram em 08/04/2017 e terminaram em 30/04/2017, após término do experimento de avaliação de parâmetros ruminais e desempenho. A produção de metano foi avaliada pela técnica de medição direta de metano ruminal, na qual um tubo de permeação contendo SF₆ com taxa de liberação conhecida foram inseridos ao rúmen dos animais por meio de sonda, seguindo metodologia adaptada de Primavesi et al. (2004)

Um cabresto equipado com tubo capilar foi ajustado na cabeça do animal (com adaptação prévia) e conectado a uma câmara (canga) de cloreto de polivinila (PVC), equipada de válvula e registro, que foi previamente submetida a vácuo. A medida em que o vácuo na canga dissipa lentamente, uma amostra do ar da região das narinas do animal é capturada a uma taxa constante de aspiração. Após a amostragem, a canga foi pressurizada com nitrogênio (gás) e as concentrações de CH₄ e SF₆ foram determinadas por cromatografia gasosa. Realizaram-se as mensurações durante cinco dias, após prévia adaptação de 10 dias aos cabrestos e cangas. As cangas foram trocadas diariamente durante os dias de coletas de avaliações até atingirem 5 coletas de boa qualidade.

A taxa de emissão de CH₄ pelos tourinhos foi calculada em relação à emissão de SF₆ pela cápsula no rúmen, com subtração da concentração de CH₄ ambiental pela equação:

$$CH_4 = CSF_6 \times ([CH_4]_c - [CH_4]_{Amb}) / [SF_6]_c$$

Onde:

CH_4 = taxa diária de emissão por animal;

CSF_6 = emissão conhecida de SF_6 pela cápsula ruminal;

$[CH_4]_c$ = concentração de CH_4 coletada na canga;

$[CH_4]_{Amb}$ = concentração de CH_4 no ambiente e

$[SF_6]_c$ = concentração de SF_6 na canga.

Após a aferição da produção diária de CH_4 , foi calculada a intensidade de produção de CH_4 (g/kg PC), o rendimento (g/kg MS ingerida), g/kg de ganho de peso, kg de CH_4 produzido por ano e a taxa de conversão de CH_4 (Y_m), que representa a porcentagem de energia bruta ingerida utilizada na produção de CH_4 .

2.10. Análise estatística

No experimento de parâmetros ruminais foi utilizado o delineamento experimental duplo quadrado latino incompleto, usando dois quadrados latinos com três tratamentos cada em quatro períodos experimentais. Nas avaliações de pH, nitrogênio amoniacal e AGCC, foram utilizadas medidas repetidas pelo tempo de acordo com o horário de coleta.

Foi utilizado o modelo misto pelo procedimento MIXED do SAS 9.2.. A escolha da matriz de covariância entre os tempos foi realizada pelo critério de Akaike (AIC) e as análises foram realizadas considerando os suplementos como efeito fixo. Todas as variáveis foram analisadas com o suplemento como efeito fixo, o período e o animal como efeito aleatório, enquanto as variáveis de parâmetros ruminais (pH, N-amoniacal e AGCC) tiveram, além do período, os tempos, também como efeitos aleatórios. As análises dos dados foram realizadas por meio do pacote estatístico SAS (2008), versão 9.2.

Quando a interação tratamento x hora foi significativa, o teste F para efeito de tratamento em cada hora foi conduzido usando a opção SLICE do LSMEANS. Na presença de efeito significativo de tratamento em uma dada hora as médias dos tratamentos foram comparadas usando teste de *Tukey*. Significância foi declarada a $P \leq 0.05$.

Modelo estatístico utilizado foi:

$$y_{ij(k)m} = \mu + QL_m + PER_{im} + ANI(QL)_{jm} + \tau(k) + \varepsilon_{ij(k)m}$$

$$i, j, k = 1, \dots, r; m = 1, \dots, b$$

Onde:

$y_{ij(k)m}$ = observação $ij(k)m$;

μ = média geral;

QL_m = efeito do quadrado m ;

PER_{im} = efeito de período;

$ANI(QL)_{jm}$ = efeito de animal j dentro do quadrado m ;

$\tau(k)$ = efeito de tratamento k ;

$\varepsilon_{ij(k)m}$ = efeito do erro aleatório;

r = número de tratamentos, e o número de períodos e animais dentro de cada quadrado;

b = número de quadrados.

O delineamento experimental do experimento de desempenho animal e dos animais avaliados quanto a produção de metano foi o inteiramente casualizado. As análises dos dados foram realizadas por meio do pacote estatístico SAS (2008), versão 9.2, por meio de modelos mistos pelo PROC MIXED. Cada piquete foi considerado como unidade experimental e o PC inicial foi utilizado como covariável para a análise estatística de GMD. As análises foram realizadas considerando os suplementos como efeitos fixos e os piquetes com efeito aleatório. Para comparação de médias foi utilizado o teste Tukey usando a opção PDIFF no comando LSMEANS, sendo as mesmas consideradas diferentes quando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

Não houve diferença significativa entre os resultados de massa de forragem e composição bromatológica nos tratamentos estudados (Tabela 3). A produção média de massa de forragem de 6,94 t/ha não diferiu entre os tratamentos ($p = 0,6719$) e apresentou valor médio de 33,87% de folhas verdes, sem diferença significativa ($p = 0,3414$).

Tabela 3. Massa de forragem (MF) e composição morfológica dos pastos de *Urochloa brizantha* durante a estação das águas (dezembro de 2016 a março de 2017), onde os animais foram suplementados com suplemento múltiplo (protéico e energético) com farelo de soja (FS), energético (SE) e suplemento múltiplo com DDG (SD) a 0,3% do peso corporal (PC).

Massa de forragem	Tratamentos			Mês				EPM	P valor		
	FS	SE	SD	Dez.	Jan.	Fev.	Mar.		TR	MÊS	TR X MÊS
MF (t/ha)	6,80	7,00	7,00	6,00b	7,00ab	8,00a	7,00ab	0,17	0,8015	0,0100	0,7753
Folha (%)	31,83	34,38	34,29	48,81a	38,34b	24,88c	21,96c	1,05	0,5337	<0,0001	0,6849
Colmo (%)	30,55	25,53	27,75	25,86	23,67	31,76	30,5	1,14	0,2192	0,0618	0,4689
M. morto (%)	37,64	40,08	36,80	23,79b	38,00a	43,39a	47,53a	1,46	0,6392	<0,0001	0,3748
<i>Composição bromatológica</i>											
M.O. (%)	91,43	91,45	91,43	92,03a	91,26bc	90,74c	91,71ab	0,08	0,9914	<0,0001	0,9081
FDN cp (%)	59,25	59,08	60,08	56,13c	59,97b	62,47a	59,30b	0,32	0,4051	<0,0001	0,7275
FDA (%)	33,02	32,51	31,98	27,97b	33,62a	34,12a	34,30a	0,18	0,0921	<0,0001	0,2185
Lignina (%)	7,20	6,80	6,39	6,33	5,94	6,89	8,02	0,27	0,4929	0,0587	0,0510
PB (%)	14,07	14,04	14,13	14,67b	18,06a	11,26d	12,34c	0,13	0,9559	<0,0001	0,0455
EE (%)	2,69	2,89	2,71	2,53b	2,18b	3,82a	2,53b	0,16	0,8559	0,0078	0,7169

FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; MF: massa de forragem; M. Morto: material morto; MO: matéria orgânica; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigido proteína e cinzas; FDA: fibra em detergente ácido; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, maiúscula em relação ao sistema de recría e minúscula em relação aos meses, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$; EPM: erro padrão da média.

Os pastos apresentaram valores elevados de PB (14,08%), sem diferir entre os tratamentos ($p = 0,9559$) porém, houve interação entre os tratamentos de recria e os meses experimentais ($p=0,0455$). Feito o desdobramento da interação, no mês de janeiro, os pastos apresentaram o maior teor de PB entre os tratamentos estudados. Estes resultados foram possíveis decorrente da chuva concentrada no mês de janeiro e da segunda adubação nitrogenada feita em meados do mês, próxima a coleta de pasto para posterior determinação do valor nutritivo, feita 10 dias após adubação, permitindo assim, o elevado valor de PB no mês em estudo. Os pastos apresentaram valores baixos de frações indigestíveis (FDNi = 13,76) sem diferença entre os tratamentos ($p=0,3764$) e fração C da PB = 10,56% ($p = 0,9670$) e valores satisfatórios de frações digestíveis (fração A da PB = 14,09 ($p=0,7826$); fração B1 = 10,69 ($p=0,3510$) e fração B2 = 38,43% da PB ($p=0,7200$) (Tabela 4).

Tabela 4. Fracionamento de proteína dos pastos de *Urochloa brizantha* durante a estação das águas (dezembro de 2016 a março de 2017), onde os animais foram suplementados com suplemento múltiplo (protéico – energético) com farelo de soja (FS), energético (SE) e suplemento múltiplo com DDG (SD).

Fracionamento de proteína	FS	SE	SD	EPM	P valor
PDR (%)	46,10	48,81	48,18	0,67	0,6644
PNDR (%)	53,90	51,19	51,81	3,96	0,6440
Fração A (%PB)	15,48	14,15	12,65	1,63	0,7826
Fração B1 (% PB)	8,33	8,25	15,50	2,21	0,3510
Fração B2 (%PB)	39,33	41,03	34,93	3,11	0,7200
Fração B3 (%PB)	26,98	26,52	27,05	2,40	0,9954
Fração C (%PB)	9,93	10,88	10,88	1,73	0,9670

FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, maiúscula em relação ao sistema de recria e minúscula em relação aos meses, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$; EPM: erro padrão da média.

Não houve diferença significativa entre o consumo e a digestibilidade dos nutrientes ($p>0,05$) dentre os animais fistulados recriados em capim Marandu recebendo suplementação de diferentes aportes nutricionais (Tabela 5).

Tabela 5. Consumo e digestibilidade dos nutrientes de bovinos recriados em pasto de capim Marandu recebendo suplemento múltiplo (proteico – energético) com farelo de soja (FS), energético (SE) e múltiplo com DDG (SD) a 0,3% PC durante a estação das águas.

Item	FS	SE	SD	EPM	P valor
<i>CONSUMO (kg/d)</i>					
CMST	8,41	8,02	7,73	0,29	0,6163
CMSp	7,32	6,95	6,64	0,17	0,3489
CMO	7,61	7,28	7,00	0,26	0,6254
CPB	1,19	1,00	1,12	0,05	0,4375
CFDNcp	4,66	4,38	4,36	0,18	0,7234
CCNF	0,91	1,13	0,96	0,22	0,0848
CNDT	5,22	4,73	4,69	0,21	0,5611
CMOD	4,91	4,59	4,60	0,20	0,7577
gPB/kg MOD	247,70	219,50	246,20	0,78	0,5580
<i>DIGESTIBILIDADE (%)</i>					
DMS	61,50	60,31	62,88	1,01	0,4707
DMO	64,18	63,00	65,44	0,93	0,4855
DPB	62,48	58,91	63,10	0,02	0,4088
DFDNcp	65,00	62,61	66,96	1,01	0,1042
DCNF	58,69	65,94	63,00	2,12	0,1263

FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; CMST: consumo de matéria seca total; CMSp: consumo de matéria seca do pasto; CMO: consumo de matéria orgânica; CPB: consumo de proteína bruta; CFDNcp: consumo de fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; CNDT: consumo de nutrientes digestíveis totais; CMOD: consumo de matéria orgânica digestível; DMS: digestibilidade da matéria seca; DMO: digestibilidade da matéria orgânica; DPB: digestibilidade da proteína bruta; DFDNcp: digestibilidade da fibra em detergente neutro corrigida para cinzas e proteína; Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, maiúscula em relação ao suplemento e minúscula em relação às horas após suplementação, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$; EPM: erro padrão da média.

O pH e teores de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) estão apresentados nas figuras 1 e 2, respectivamente. Dentre os suplementos estudados, o pH não apresentou diferença significativa ($p = 0,0908$), observando-se que as médias encontradas foram de 6,25; 6,36 e 6,33 nos tratamentos FS; SE e SD, respectivamente porém, houve diferença significativa entre os horários de coleta após a suplementação (Figura 1). Os valores de pH apresentaram comportamento linear decrescente.

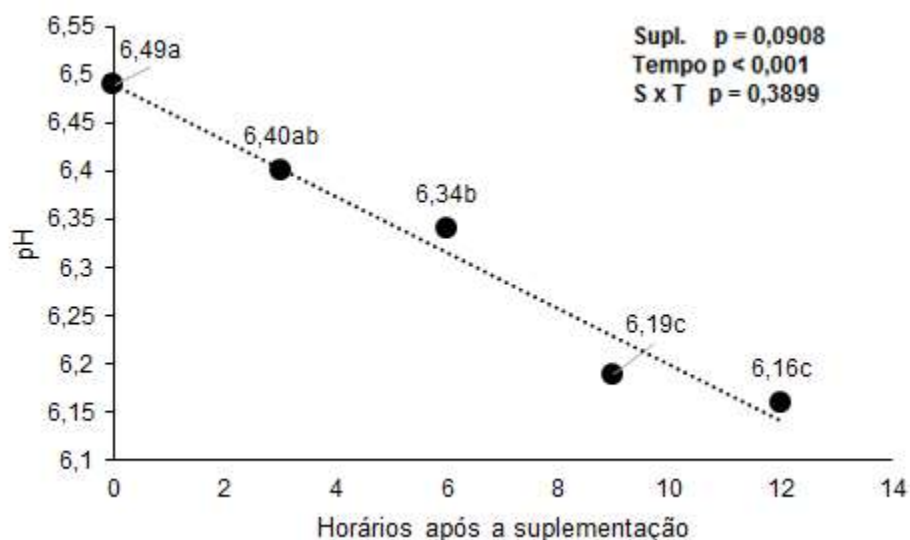


Figura 1. pH ruminal de bovinos recriados em pasto de capim Marandu recebendo suplemento múltiplo (proteico – energético) com farelo de soja (FS), energético (SE) e múltiplo com DDG (SD) a 0,3% PC durante a estação das águas (12/2016 a 03/2017) em diferentes horários após o fornecimento da suplementação.

O teor de nitrogênio amoniacal (Figura 2), não diferiu entre os suplementos estudados ($p = 0,1064$). As médias encontradas foram de 14,63; 12,07 e 13,64 nos tratamentos FS; SE e SD, respectivamente. Quando avaliado o teor de $N-NH_3$ entre as horas de coleta em função da suplementação, houve diferença significativa ($p < 0,0001$).

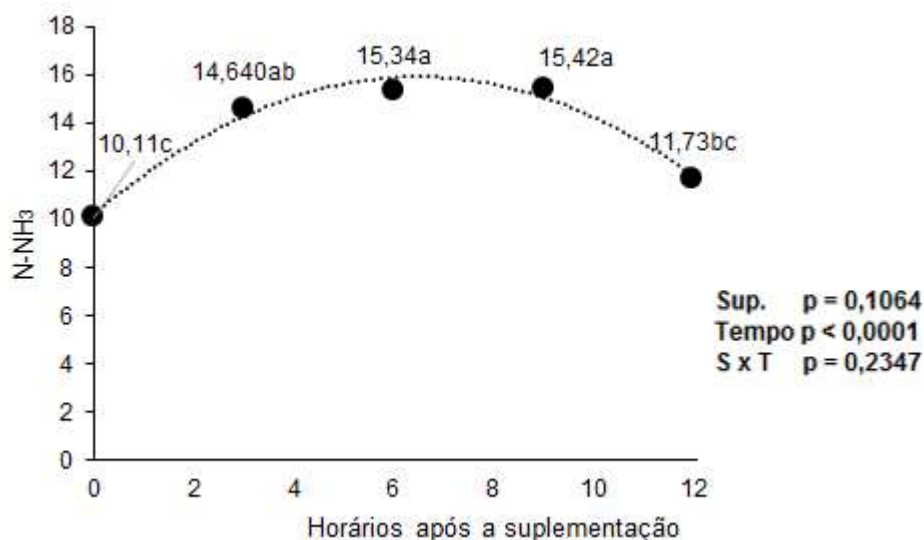


Figura 2. Teor de nitrogênio amoniacal do rúmen de bovinos recriados em pasto de capim Marandu recebendo suplemento múltiplo (proteico – energético) com farelo de soja (FS), energético (SE) e múltiplo com DDG (SD) a 0,3% PC durante a estação das águas (12/2016 a 03/2017) em diferentes horários após o fornecimento da suplementação.

O teor de N amoniacal apresentou comportamento quadrático ao longo do período de avaliação. No momento antes da suplementação (0 horas) e 12 horas após a suplementação, foram observados os menores valores, os quais não diferiram entre si. Contudo, as 3, 6 e 9 horas após a suplementação foram observados os maiores valores, que não apresentaram diferença significativa entre si.

A concentração de ácidos graxos de cadeia curta totais (mg/dL), a proporção de acetato, propionato e butirato em relação ao total de ácidos graxos de cadeia curta e a relação acetato:propionato estão apresentados na Tabela 6. O tipo de suplemento não proporcionou diferença quanto aos parâmetros ruminiais estudados ($p > 0,05$) porém, em todas as variáveis o tempo alterou os valores de ácidos graxos de cadeia curta ($p < 0,0001$), teor de acetato, propionato ($p < 0,001$) e butirato ($p = 0,0022$) e relação acetato:propionato ($p < 0,0001$).

Tabela 6. Valores de ácidos graxos totais (mg.dL⁻¹), acetato, propionato, butirato (%AGCC) e relação acetato/propionato do rúmen de bovinos recriados em pasto de capim Marandu recebendo suplemento múltiplo com farelo de soja (FS), energético (SE) e múltiplo com DDG (SD) a 0,3% PC durante a estação das águas em diferentes horários após a suplementação.

Variáveis	Suplementos			Horas após suplementação					EPM	P valor		
	FS	SE	SD	0	3	6	9	12		Suplem.	Tempo	S X T
AGCC totais (mg.dL ⁻¹)	100,73	98,33	97,12	98,80abc	91,56c	95,51bc	100,89ab	106,87a	1,22	0,3188	<0,0001	0,5416
Acetato (% AGCC)	72,06	71,14	71,00	72,71a	71,82ab	70,95bc	70,06c	71,47b	0,19	0,1061	<0,0001	0,7267
Propionato (% AGCC)	15,08	15,55	15,64	14,61b	14,46b	15,73a	16,36a	16,01a	0,15	0,4993	<0,0001	0,7020
Butirato (% AGCC)	9,42	10,03	10,47	9,58b	10,10a	10,15a	10,17a	9,88ab	0,10	0,0578	<0,0022	0,6768
Acet:prop	4,73	4,65	4,56	4,97a	4,99a	4,49b	4,32b	4,45b	0,06	0,6105	<0,0001	0,2230

FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; Acet:prop: relação acetato/propionico; Suplem.: suplementos; S x T: interação entre suplementos e tempo; Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, maiúscula em relação ao suplemento e minúscula em relação às horas após suplementação, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$; EPM: erro padrão da média.

As porcentagens de propionato foram menores no momento antes da suplementação e as 3 horas após fornecimento do suplemento, tendo um aumento a partir de 6 horas após suplementação. As 3, 6, 9 e 12 horas após a suplementação não foi observado diferenças quanto a proporção de butirato no rúmen.

Os dados referentes a síntese de proteína microbiana e balanço de nitrogênio estão representados na Tabela 7. A ingestão de nitrogênio, o nitrogênio excretado pelas fezes, balanço de nitrogênio em g/d, balanço de nitrogênio pela porcentagem de nitrogênio ingerida, produção de proteína microbiana (g/d) e gramas de proteína microbiana por kg de NDT não diferiram entre os tratamentos ($p>0,05$).

Tabela 7. Síntese de proteína microbiana e balanço de nitrogênio de bovinos recriados em pasto de *Urochloa brizantha* recebendo suplemento múltiplo com farelo de soja (FS), energético (SE) e múltiplo com DDG (SD) a 0,3% PC durante a estação das águas em diferentes horários após a suplementação.

Suplementação:					
Item	Suplementos			EPM	P valor
	FS	SE	SD		
Utilização do nitrogênio					
N ingerido (g/d)	190,45	168,22	178,52	8,59	0,4373
N urina (g/d)	49,07a	41,40a	27,24b	3,02	0,0103
N fezes (g/d)	72,29	70,14	63,67	4,37	0,3215
N retido (g/d)	69,09	56,68	81,96	6,60	0,3249
N retido (% ingerido)	35,14	33,37	44,59	0,03	0,2442
Eficiência Microbiana					
Pmic g/d	513,48	764,07	584,70	108,71	0,5670
g Pmic/Kg NDT	139,05	130,91	135,61	20,44	0,9802

FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$; EPM: erro padrão da média.

A excreção de nitrogênio pela urina foi menor no tratamento SD, resultado benéfico, uma vez que diminuiu a perda de nitrogênio ao ambiente. As demais variáveis não apresentaram diferença significativa ($p>0,05$).

Os resultados de desempenho de tourinhos Nelore mantidos em pastos de capim Marandu na recria sob estratégias de suplementação estão apresentados na Tabela 8. Não houve diferença significativa quanto o peso inicial e peso final dos animais ($p>0,05$).

Tabela 8. Desempenho, taxa de lotação e ganho por área de bovinos recriados em pasto de *Urochloa brizantha* recebendo suplemento múltiplo com farelo de soja (FS); energético (SE) e múltiplo com DDG (SD) a 0,3% PC durante a estação das águas de dezembro de 2016 a março de 2017.

	Suplementos			EPM	P valor
	FS	SE	SD		
Pi (kg)	256	249	252	2,003	0,4427
Pf (kg)	355	353	354	2,972	0,9624
GMD (kg/d)	0,922	0,970	0,932	0,0161	0,4448
U.A./ha	5,85	5,97	5,81	0,089	0,7426
Kg/ha/dia	7,37	7,96	7,42	0,153	0,2916

FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; Pi: peso inicial; Pf: peso final; GMD: ganho médio diário; U.A./ha: taxa de lotação; kg/ha: ganho por área; Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$; EPM: erro padrão da média.

O ganho médio diário não diferiu entre os tratamentos de recria, bem como a taxa de lotação e ganho por área ($p>0,05$). A produção de metano entérico, produção de metano diária em gramas por quilos de ganho de peso e kilogramas de metano produzido no ano não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos em estudo (Tabela 9).

Tabela 9. Produção de metano entérico bovinos recriados em pasto de capim Marandu recebendo suplemento múltiplo com farelo de soja (FS), energético (SE) e múltiplo com DDG (SD) a 0,3% PC durante a transição água/seca, em abril de 2017.

Itens	Suplementos			EPM	P valor
	FS	SE	SD		
Emissão CH ₄					
PC	367,67	391,25	386,5	0,02	0,3419
CMS	6,3	5,15	6,96	0,001	0,2589
CMO	5,82	4,35	5,86	0,17	0,2403
CFDN	3,33	2,26	3,58	0,13	0,118
CH ₄ (g/d)	84,68	103,1	86,54	6,39	0,4576
CH ₄ (g/kg/PC)	0,23	0,26	0,22	0,02	0,5718
CH ₄ (g/kg MS)	13,37b	22,63a	13,81b	0,73	0,0012
CH ₄ (kg/kg ganho de peso)	99,34	107,38	94,53	7,72	0,78
CH ₄ (kg/ano)	30,91	37,63	31,59	2,33	0,4576
Ym (%)	4,07b	6,88a	4,20b	0,22	0,0012

FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; CH₄: gás metano; Ym: taxa de conversão de metano; Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$; EPM: erro padrão da média.

O rendimento de CH₄ (g/kg de matéria seca consumida) e a taxa de conversão de metano (Y_m) diferiram quanto aos tratamentos estudados ($p>0,05$). Em ambas as variáveis, animais alimentados com suplemento energético apresentaram valores superiores aos demais tratamentos.

4. DISCUSSÃO

A disponibilidade de folhas verdes apresentada nos pastos indica maior valor nutritivo da dieta ingerida (Nave et al., 2013). Segundo Hodson et al. (1994), quando há limitação na oferta de folhas verdes, o animal modula seu consumo diminuindo a qualidade do que é ingerido. Sem limitação, as necessidades nutricionais dos animais foram atendidas pois não houve restrição no consumo de forragem devido a elevada oferta total de massa e de folhas verdes.

O histórico de adubação nitrogenada de uma área interfere na composição bromatológica da planta, ou seja, pastos que há anos recebem nitrogênio como substrato para crescimento tendem a apresentar alto valor de proteína solúvel (Werner, 1986). Os pastos do setor de Forragicultura da FCAV/Unesp Campus Jaboticabal confirmam essa hipótese com média de 15% de proteína bruta na forrageira durante o período das águas (Casagrande et al., 2011; Barbero, et al., 2015; Hoffman, 2019).

A adequada composição bromatológica dos pastos com baixos teores de frações indigestíveis e elevado teor de frações digestíveis tendem a otimizar o consumo e o desempenho animal, enquanto as frações indigestíveis, conferem o mecanismo de regulação física do consumo de forragens tropicais (Lazzarini et al., 2009). Segundo Detmann et al. (2014), o mínimo necessário de PB na dieta para que os microrganismos tenham condições de utilizar os substratos energéticos fibrosos é de 7%, assim, o consumo de forragem não foi limitado por fatores estruturais ou nutricionais, apresentando elevado valor de proteína e oferta de massa e folhas verdes com baixos valores de FDNi e digestibilidade da FDN adequada. A atividade ruminal é otimizada com 160g PB/kg MOD e, segundo Detmann et al. (2014), em estudo da eficiência de utilização do N em bovinos de corte criados em pastagens tropicais associada a suplementação, concluíram o máximo de eficiência com

consumo de 200g de PB/kg MOD e perdas com relações superiores a citada. No presente trabalho, considerando essa relação, houve perdas na utilização de N pelos animais.

O consumo tem influência direta com o ganho de peso (Poppi et al., 1987; da Silva et al., 2013). De acordo com Valadares Filho (2016), animais de 300 kg, para alcançarem ganhos de 1 kg/dia devem apresentar CMST de 7,3 kg/dia, CNDT de 4,3 kg/dia e CPB de 800g/dia. Os animais em estudo apresentaram consumo superiores aos estimados pelo Valadares Filho (2016). Considerando os resultados obtidos em pesquisas com gramíneas tropicais associada com estratégias de suplementação (Barbero et al., 2015; Koscheck et al., 2015), consumo de 1kg de proteína promovem ganhos de peso entre 0,800kg/d a 1,200kg/d (Barbero et al., 2015; Hoffmann, 2019). O elevado consumo de PB ocorreu em função da proteína solúvel advinda do pasto e a proteína presente nos suplementos múltiplos. No estudo, não houve diferença no CPB mesmo com o fornecimento de suplemento energético. A PB da composição do SE foi inferior aos tratamentos FS e SD e mesmo assim, o CPB não diferiu. Lazarini et al. (2016), testando a suplementação energética com amido e suplementos múltiplos com amido e adição de nitrogênio, também não encontraram diferença no CPB entre os suplementos. Os autores afirmam que, a suplementação energética com amido, estimulou indiretamente o consumo de pasto, atribuindo o incremento do CPB aos animais suplementados só com amido à proteína do pasto.

A suplementação energética e proteico - energética com teores consideráveis de PNDR em associação ao pasto de elevado teor de proteína solúvel, como fonte de volumoso, permitem maior eficiência de utilização do nitrogênio (Poppi e McLennan, 1995). O consumo e digestibilidade dos nutrientes tem forte relação com o sincronismo entre proteína e energia presentes no rúmen, explicando assim os resultados encontrados quanto ao consumo e digestibilidade. Sem deficiência de nitrogênio na dieta, como no experimento, a reciclagem é constante (Marini e Van Ambourgh, 2003), há uma redução da demanda de ureia no rúmen, reduzindo a utilização de aminoácidos no fígado (para a reciclagem de nitrogênio) e aumentando a disponibilidade de precursores proteicos para síntese de tecido corporal (Costa, 2009).

Os tratamentos com farelo de soja e DDG apresentaram em sua composição

18,09 e 13,41% da fração A (%PB), valores inferiores a 23,27%, fração A (%PB) do suplemento energético. Quanto a PNDR, os valores encontrados foram de 35,78% e 41,35% no suplemento com farelo de soja e suplemento com DDG, respectivamente. A menor proporção de PDR não interferiu na digestibilidade da MS e dos nutrientes estudados, comprovando que o ambiente ruminal estava em condições adequadas para fermentação e favorecendo no atendimento das exigências de proteína metabolizável (NRC, 2000).

O nutriente no ambiente ruminal sofre alterações em função do processo de fermentação efetuado pelos microrganismos do rúmen. As mudanças de pH ruminal ao longo do tempo e a permanência do alimento no ambiente ruminal, promove mudanças nas concentrações de nitrogênio amoniacal (N-NH_3) e dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que são formados e absorvidos pelo epitélio ruminal.

O pH ruminal afeta a população microbiana e isso é determinado pelo tipo de alimento consumido. Segundo Hoover (1986), valores de pH inferiores a 6,2 inibem a população de bactérias celulolíticas, reduzindo a degradação de carboidratos estruturais. A análise dos valores de pH (Figura 1) mostrou comportamento decrescente após o horário de suplementação. Nas últimas horas após a suplementação (9 e 12 horas), o pH encontra-se inferior ao valor reportado por Hoover (1986), selecionando população de microrganismos que produzem propionato como subproduto da fermentação, corroborando com o comportamento crescente da produção desse ácido no estudo. Essa alteração na proporção dos ácidos graxos de cadeia curta no ambiente ruminal é associada ao comportamento ingestivo do animal que tem sua atividade de pastejo aumentada no final da tarde (Casagrande et al., 2011), aumentando a produção de íons de hidrogênio no rúmen pela fermentação microbiana e produção de AGCC (Owens e Goetsch, 1993), abaixando o pH e selecionando população de microrganismos resistentes.

O N-NH_3 é substrato requerido pelos principais microrganismos ruminais fermentadores de carboidratos estruturais (Valadares Filho e Pina, 2011). As variações durante o tempo depois da suplementação (Figura 2) ocorreram devido a capacidade das bactérias sintetizarem proteína e utilizarem a amônia no processo de fermentação de carboidratos (Van Soest, 1994). Segundo Detmann et al. (2014), concentrações de N-NH_3 abaixo de 6,3mg/dL causam deficiência na fermentação

ruminal e, valores inferiores a 5mg/dL causam queda na síntese de proteína microbiana e desempenho animal (NRC, 2000). Essas concentrações são observadas em dietas com 10% ou menos de PB. No presente trabalho essas limitações não foram observadas pois os animais de nenhum dos tratamentos apresentaram média de N-NH₃ abaixo de 12,07mg/dL um vez que a dietas em todos os tratamentos apresentaram valores de PB superiores a 10%.

No presente trabalho, os horários de coleta que resultaram em menor valor de N-NH₃ foram antes da suplementação e após 12 horas de ingestão do suplemento, o que pode ser explicado pelo comportamento ingestivo noturno dos animais, o qual varia apenas de 12 a 27% do tempo de pastejo em bovinos de corte (Ebersohn et al. 1983). Nos tempos de coleta de 3 a 9 horas após a ingestão de suplemento foram observados os maiores valores de N-NH₃, possivelmente associado ao fornecimento de proteína via suplemento (Detmann et al., 2009).

Os valores de acetato, propionato e butirato, os quais representam os ácidos graxos de cadeia curta predominantes em ambiente ruminal, não diferiram quanto aos suplementos utilizados. A proporção de cada ácido varia de acordo com a dieta do animal porém, segundo Coelho da Silva e Leão (1979), o acetato varia de 54% a 74%, o propionato de 16 a 27% e o butirato de 6 a 15% no rúmen. Pode-se observar que no presente estudo, as variações estão na faixa proposta por Coelho da Silva e Leão (1979). O acetato apresenta comportamento decrescente em função do horário de suplementação, o que pode ser explicado pelo comportamento ingestivo dos animais. Por outro lado, as percentagens de propionato mostraram comportamento inverso, crescendo conforme se passavam as horas após a suplementação.

O DDG apresenta alto conteúdo de FDN potencialmente digestível sendo esperado um aumento dessa relação acetato:propionato em dietas com adição desse coproduto (Bergman, 1990). No presente estudo, as alterações ocorreram com o passar do tempo do fornecimento da suplementação, sem que os tipos de suplemento alterassem essa relação. De acordo com Antunes et al. (2011), a produção de butirato se dá a partir do acetato pela via inverso da β -oxidase, via que utiliza cofatores oxidados permitindo prosseguir com os processos fermentativos (Fahey Jr. E Berger, 1993), causando assim a diminuição do acetato e relação acetato:propionato nas últimas horas após a suplementação.

Nocek e Russel (1988) afirmam que a eficiência do crescimento microbiano se relaciona inversamente ao tempo de permanência dos microrganismos no rúmen e, depende da partição entre energia de manutenção e crescimentos dos mesmos. Os suplementos estudados, possibilitaram aporte de energia similar para o crescimento microbiano (Moraes et al., 2010), se igualando entre si. Segundo Minson (1990) e Hunter (1991) a eficiência microbiana muda quanto a quantidade de proteína e energia livre no rúmen. Não houve restrição de nitrogênio em nenhum tratamento. A %PB da forragem foi em média de 14,08% e, em associação à suplementação, o CPB foi superior a 1kg/d e CNDT maior que 4,5 kg/dia em todos os tratamentos.

Os valores de proteína microbiana podem variar de 53 a 140 g/kg de NDT (NRC, 2000), no estudo as variações entre os tratamentos foram superiores ao proposto pelo NRC (2000). As fontes de proteína, advindas do pasto e suplemento, favoreceram o crescimento microbiano e proteína absorvível no intestino em todos os tratamentos. Os pastos adubados apresentam alto teor de frações rapidamente degradáveis no rúmen, favoreceram o crescimento e multiplicação das fontes de proteínas microbianas juntamente com o PNDR dos suplementos, proteína que chegam no intestino delgado.

A proteína solúvel do pasto aliada a suplementação energética fornece substrato para síntese de proteína microbiana (NRC, 2001) maximizando sua eficiência com o sincronismo de energia e proteína para o aproveitamento bacteriano (Dewhurst et al., 2000). Todos os tratamentos estudados proporcionaram energia e proteína suficientes para o crescimento microbiano ($p=0,5670$). De acordo com Detmann et al. (2010) e Costa (2009), o aumento de energia estimula a reciclagem de nitrogênio diminuindo a retenção. No estudo não houve diferença entre os tratamentos. Sem deficiência de nitrogênio na dieta, quando há excesso, o nitrogênio vai ser usado no processo de reciclagem ou ser excretado pela urina e não é utilizado no anabolismo (Lazzarini et al., 2016). O SD apresentou a menor excreção de nitrogênio pela urina, o que pode ser atribuída a PNDR em sua composição e a FDN mais digestível presente no ingrediente que substituiu parte da energia do suplemento.

Os animais suplementados apresentaram mesmo desempenho. Como sugerido por Barbero et al. (2015), o estudo da suplementação energética a animais em condição de pastagens bem manejadas, poderiam aumentar a produção de

proteína microbiana pelo aproveitamento da proteína solúvel do pasto e energia de rápida degradação vinda do suplemento. Mesmo sem diferença significativa entre os tratamentos, a SE apresentou valores de proteína microbiana e ganho médio diário superiores ao FS e SD.

De acordo com Mott (1960), uma forma eficiente de avaliar a qualidade da forragem é pelo desempenho animal, considerando que estes tenham potencial para produção e sejam uniformes e, haja quantidade disponível de forragem máxima para o consumo animal e ausência de ração. Quando há alimento disponível, a taxa de lotação tem pouco efeito sobre a produção individual. Segundo Mott (1960), à medida que aumenta a taxa de lotação de uma área a produção individual decresce, pois começa a haver competição por alimento entre os animais. O uso de suplementação permitiu uma maior taxa de lotação (média de 5,88 u.a./ha) sem interferir nos ganhos individuais (médio de 0,941g/dia).

Os substratos fornecidos aos microrganismos metanogênicos do rúmen são advindos da dieta em que o animal está submetido (Freire, 2015). A produção de metano é responsável por cerca de 2 a 12% das perdas de energia dos alimentos (Johnson e Johnson, 1995; Moss, 2001), com maiores perdas em animais alimentados com forragem (Weiner, 1998; IPCC, 2019). As variações nas emissões de metano se dão pela quantidade e qualidade de carboidratos fermentados no rúmen e o fornecimento de suplementos concentrados (Johnson e Johnson, 1995; IPCC, 2019). A emissão de CH₄ anual pelos animais que receberam suplemento concentrado são menores que a média anual de 49 kg de CH₄ segundo o IPCC (2006), porém estão de acordo com os dados relatados pelo IPCC (2019). A produção individual também estão de acordo com os valores relatados pelo órgão.

Com o fornecimento de alimentos concentrados, há a diminuição da produção de CH₄ pelos animais (Kebread et al., 2016; Ellis et al., 2014). A produção também está relacionado com o consumo de matéria seca (IPCC, 2019), sendo diretamente proporcional. As dietas são classificadas quanto sua qualidade em auxílio a determinação do Y_m, que representa a taxa de conversão de metano pela porcentagem de energia bruta consumida pelo animal que é perdida para a produção de CH₄. O órgão caracteriza dietas com digestibilidade entre 63 e 70% de boa qualidade e baixa emissão de CH₄, com Y_m de 6,3%. Dados de produção de CH₄ (g)

pela quantidade de matéria seca consumida pelo animal (em kg), ou seja, rendimento de CH₄, também foram coletados e, de acordo com IPCC (2019), 21g de CH₄/kg MS apresentam Y_m de 6,3% e 12,99g CH₄/kg MS geram Y_m de 3,84, resultados que corroboram com os apresentados no presente trabalho.

A menor emissão de CH₄ pelos animais que receberam suplementos múltiplos pode ser explicada pela redução do suprimento de H₂ no rúmen, uma vez que alimentos concentrados alteram a produção de AGCC, aumentando o proprionato do qual, a via de formação não há a liberação de hidrogênio (Hegarty, 2007). Segundo Koscheck (2016), Barbero et al. (2015) e Hoffmann (2019), os animais que recebem suplementação concentrada múltipla reduziram a emissão diária de CH₄ pelo animal. Além disso, a intensidade de produção (as emissões de metano em relação ao ganho de peso) também foram menores quando os animais receberam suplementos múltiplos. Dentre os animais que recebem suplementado múltiplo, a média de intensidade de emissão é de 109 e 123kg CH₄/kg de ganho PC (Barbero et al., 2015; Koscheck, 2016, respectivamente) valores que corroboram com os apresentados no presente trabalho. A maior emissão de CH₄ acompanhou o maior ganho de peso diário e os valores se encontram nos limites sugeridos pelo IPCC (2019).

Análise de ampla base de dados efetuadas por Van Lingen et al. (2019) evidenciam que a produção de metano tem alta correlação com o consumo de matéria seca e os teores de FDN da dieta. No presente estudo observou-se maiores produções de metano nos animais suplementados com energia (Tabela 9) e também menores valores de digestibilidade da fração FDN (Tabela 5). O maior consumo de amido pode interferir negativamente na digestibilidade da fração FDN, o que deveria reduzir a produção de CH₄. Contudo, Warner et al. (2016) observaram menores produções de CH₄, mas alta produção de CH₄ por unidade de matéria orgânica digestível em dietas de vacas alimentadas com gramíneas com maiores teores de FDN e de lignina, comparada com aquelas de baixos valores destes compostos.

A suplementação energética, que apresentou maior rendimento de CH₄, que está diretamente ligado a produção, apresenta baixo proteína em sua composição que, de acordo com Navarro – Villa et al. (2011), o nitrogênio também funciona como escape de hidrogênio no rúmen, podendo explicar assim o maior rendimento. Além disso, Marton et al., (2010) e Van Gastelen et al., (2015), sugerem a quantidade crítica

de 20% de amido na dieta para que ocorra a diminuição de produção de CH₄.

5. CONCLUSÃO

Os parâmetros ruminais apresentam mesmo comportamento entre os suplementos energéticos a base de milho e suplementos múltiplos com soja ou DDG quando associados a pastos de alta qualidade, ou seja, de alto teor de proteína solúvel.

O uso de suplemento energético em associação a pastos com altos teores de proteína solúvel não altera utilização de nitrogênio ruminal e a PNDR presente no DDG diminuem as excreções de nitrogênio pela urina.

O uso de suplemento energético e múltiplo com DDG substituindo o farelo de soja podem ser substitutos a suplementação com ingredientes convencionais sem causar efeito detrimental ao desempenho animal.

A suplementação múltipla (proteico – energética) apresenta maior eficiência na redução do rendimento de CH₄.

6. LITERATURA CITADA

Antunes RC, Rodriguez NM, Saliba EOS (2011). Metabolismo dos carboidratos não estruturais. In: Berchielli TT, Pires AV, Oliveira SG. (2 eds.) **Nutrição de ruminantes**. Funep, Jaboticabal/SP. p. 239 – 260.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. **Official methods of analysis**. 15 ed., Arlington, 1990. 1117 p.

Barbero RP, Malheiros EB, Araújo TLR, Nave RLG, Mulliniks JT, Berchielli TT, Ruggieri AC, Reis RA (2015) Combining Marandu grass grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. **Animal Feed Science and Technology**, 209, 110-118.

Bergman EN (1990) Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, v. 70, p. 567.

Berndt A (2010). Impacto da pecuária de corte brasileira sobre os gases do efeito estufa. Paper presented at the **III International Symposium of Beef Cattle Production**, 3–5 July, Viçosa, Brazil, pp. 122–43.

Casagrande DR, Ruggieri AC, Berchielli TT, Moretti MH, Vieira BR, Roth APTP, Reis RA (2011) Sward canopy structure and performance of beef heifers under supplementation in *Brachiaria brizantha* cv. Marandu pastures maintained with three grazing intensities in a continuous stocking system. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, p.2074-2082.

Casagrande DR, Azenha MV, Vieira BR, de Resende FD, de Faria MH, Berchielli TT, Ruggieri AC, Reis RA (2013) Performance and carcass quality of feedlot- or pasture-finished Nellore heifers according to feeding managements in the postweaning phase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 42, p. 899-908.

Casali AO, Detmann E, Valadares Filho SC, Pereira JC, Henriques LT, Freitas SG, Paulino MF (2008) Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimento in situ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 335-342.

Castillo-Lopez E, Klopfenstein TJ, Fernando SC, Kononoff PJ (2012) In vivo determination of rumen undegradable protein of dried distillers grains with solubles and evaluation of duodenal microbial crude protein flow. **J. Anim. Sci.**, 91:924-934.

Coelho da Silva JF, Leão MI (1979) **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livroceres, 380 p.

Chen XB, Gomes MJ (1992) **Estimation of microbial protein supply to sheep and cattle basid on urinary excretion of purine derivatives-an overview of the technical details**. Occasional publication. Buchsburnd Aberdeen. Ed. Rowett Research Institute. 21 p.

Chizzotti ML, Valadares Filho SC, Valadares, RFD, Chizzotti FHM, Tedeschi LO, (2008). Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. *Livest. Sci.* 113, 218–225.

Costa VAC, Detmann E, Valadares Filho SC, Paulino MF, Carvalho IPC, Monteiro LP (2011) Consumo e digestibilidade em bovinos em pastejo durante o período das águas sob suplementação com fontes de compostos nitrogenados e de carboidratos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 8, p. 1788 - 1798.

Delevatti LM, Romanzini EP, Koscheck JFW, de Araújo TLR, Renesto DM, Ferrari AC, Barbero RP, Mulliniks JT, Reis RA (2019) Forage management intensification and supplementation strategy: Intake and metabolic parameters on beef cattle production. **Animal Feed Science and Technology**, v.247, p. 74- 82.

Detmann E, Franco MO, Batista ED, Reis W, Valadares Filho SC, Paulino M. (2015). Cinética de digestão e passagem da fibra em ruminantes e sua otimização por meio de estratégias nutricionais. **Simpósio Brasileiro de Microbiologia do Rúmen**, 1.

Detmann E, Valente EEL, Batista ED, Huhtanen P (2014) An evaluation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Livestock Science**, v. 162, n. 1, p. 141–153.

Detmann E, Paulino MF, Mantovani HC, Valadares Filho SC, Sampaio CB, Souza MA, Lazzarini I, Detmann KSC (2009) Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis–Menten kinetics. **Livestock Science**, v. 126, p. 136–146.

Detmann E, Paulino MF, Zervoudakis JZ, Valadares Filho SC, Lana RP, Queiroz DS (2006) Suplementação de Novilhos Mestiços durante a Época das Águas: Parâmetros Ingestivos e Digestivos. **Revista Brasileira Zootecnia**. v. 30, n. 4, p. 1340-1349.

Dewhurst RJ, Davies DR e Merry RJ. (2000). Microbialprotein supply from the rumen. *Anim. Feed Sci. Technol.* 85:1–21.

Ebersohn JP, Evans J, Limpus JF (1983) Grazing time and its diurnal variation in beef steers in coastal South-East Queensland. **Tropical Grassland**, v. 17, n. 2, p. 7681.

Fahey Jr CG, Berger LL. (1993) Los carbohidratos en la nutrición de los ruminantes. In: Church DC (Ed.) **El ruminante: fisiología digestiva y nutrición**. Zaragoza: Acribia, 305 - 337

Famme P, Knudsen J (1984) Total heat balance study of anaerobiosis in Tubiflex (Muller). *J. Comp. Physiol.* 154(B): 587-591.

Fenner H (1965) Method for determining total volatile bases in rumen fluid by stem distillation. **Journal Dairy Science**, v. 48, p. 249-251.

Ferrel CL (1988) Contribution of visceral organs to animal energy expenditures. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 23-34.

Freiri APA (2015) **Desempenho, características de carcaça, produção de metano e metabolismo ruminal em ovinos alimentados com dieta contendo nitrato de cálcio**. Tese (Ciência Animal e Pastagens) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba. 114p.

Hall MB, Huntington GB, (2008) Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 287-292.

Hegarty RS (2007) **Minimising greenhouse gas emissions from the Australian feedlot sector**. In ‘Beefworks 2007 proceedings’. pp. 99–103.

Hodgson J, Clark DA, Mitchell RJ (1994). Foraging behaviour in grazing animals and its impact on plant communities. In: Fahey, G.C., Collins, M., Mertens, D.R., Moser, L.E. (Eds.), **Forage Quality, Evaluation, and Utilization: Agronomy, Crop Science and Soil Science Societies of America**, pp. 796–827.

Hoffmann A (2019) **Eficiência Da Substituição Do Farelo De Algodão Por Ddgs Na Produção De Bovinos De Corte**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal.

Hoover WH (1986) Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. **Journal Dairy Science**, v. 68, n. 1, p. 40-44.

Hunter RA, (1991). **Strategic supplementation for survival reproduction and growth of cattle**. In: Proceedings of the 2th Grazing Livestock Nutrition Conference. McCollum III Oklahoma State University: Steamboat Springs, Colorado. pp. 32–47.

Intergovernmental Panel on Climate Change (2019). **2019 Refinement to the 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories** In: Gavrilova O, Leip A, Dong H, MacDonald JD, Bravo CAG, Amon B, Rosales RB, del Prado A, de Lima MA, Oyhantçabal W, Van der Weerden T, Widiawati Y Emissions from livestock and manure management. Vol.4: Agriculture, forestry and other land use. p. 10.3 – 10.3.5.

Intergovernmental Panel on Climate Change. 2006. Emissions from livestock and manure management. In: 2006. **IPCC guidelines for national greenhouse inventories**. Vol.4: Agriculture, forestry and other land use. p. 10.1–10.87.

Intergovernmental Panel on Climate Change (1996) Greenhouse Gas Inventory Revised Methodology. **Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories**, vol. 3. Bracknell: IPCC.

Ivins JD, Dilnot J, Davison J (1958) The interpretation of data of grassland evaluation in relation to the varying potential outputs of grassland and livestock. **Grass and Forage Science**, v. 13, n. 1, p. 23-28.

Johnson, KA e Johnson DE (1995). Methane emissions from cattle. **Journal of Animal Science**. 73, 2483–2492.

Koscheck JFW, Delevatti LM, Ferrari AC, Mousquer CJ, Silva WLD, Valente ALS, Rinco GDO, Gottardi BA, Gasparin RA, Reis RA (2015). Pasture management and strategic supplementation on beef cattle productivity grazing *Brachiaria brizantha* pasture. **Canadian Society of Animal Science**, The Westin Ottawa: Ottawa, Ontario, Canada, pp. 22.

Lazzarini Í, Detmann E, de Campos Valadares Filho S, Paulino MF, Batista ED, de Almeida Rufino LM, dos Reis WLS, de Oliveira Franco M. (2016). Nutritional performance of cattle grazing during rainy season with nitrogen and starch supplementation. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, 29(8), 1120.

Lazzarini I, Detmann E, Sampaio CB, Paulino MF, Valadares Filho SDC, Souza MAD, Oliveira FA (2009) Intake and digestibility in cattle fed low-quality tropical forage and supplemented with nitrogenous compounds. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.2021-2030.

Licitra G, Hernandez TM, Van Soest PJ (1996) Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Science Feed Technology**. p. 57 - 347.

Lingen HJV, Niu M, Kebread E, Valadares Filho SC, Rooke JA, Duthie CA, Schwarm A, Kreuzer M, Hynd PI, Caetano M, Eugene M, Martin C, McGee M, O'Kiely P, Hünnerbergi M, McAllister TA, Berchielli TT, Messanak JD, Peiren N, Chavesm AV, Charmleyn E, Coleo NA, Halesp KE, Leeq SS, Berndtr A, Reynoldss CK, Cromptons LA, Bayatt AR, Yáñez-Ruizu DR, Yuv Z, Banninkw A, Dijkstrax J, Casperly DP, Hristovz AN. (2019). Prediction of enteric methane production, yield and intensity of beef cattle using an intercontinental database. **Agriculture, Ecosystems and Environment** ://doi.org/10.1016/j.agee.2019.106575

Marini JC, Van Ambourgh mE (2003). Nitrogen metabolism and recycling in Holstein heifers. **Journal of Animal Science**. v.81, p. 545 – 552.

Minson DJ (1990). **Forage in ruminant nutrition**. New York: Academic Press. 483p.

Moraes EHBK, Paulino MF, Moraes KAK, Valadares Filho SC, Figueiredo DM, Couto VRM (2010) Exigências de proteína de bovinos anelados em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 3, p. 601 - 607.

Mott GO (1960) Grazing pressure and the measurement of pasture production .In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 8., 1960, **Reading. Proceedings...** Reading: University of Reading, p. 606 – 611.

Mott GO, Lucas HL (1952) The design conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: International Grassland Congress, 6, Pennsylvania. **Proceedings ...**Pensylvania State College, 1952. p.1380-1395.

Nave RLG, Sulc RM, Barker DJ (2013). Relationships of forage nutritive value to coolseason grass canopy characteristics. *Crop Science*. 53, 341–348.

NRC – National Research Council (2000). **Nutrient requirements of beef cattle**. 8th ed. Washington: National Academic Press, 234p.

NRC - National Research Council. (2001). **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7th Ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.

National Research Council – NRC (2001) **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, DC: Academic Press, 381p.

Nocek JE, Russell JB (1988) Protein and energy as an integrated system. Relation of ruminal protein and carbohydrates availability to microbial synthesis and milk production. **Journal of Dairy Science**, v.71, p.2070-2107.

Nussio LG, Campos FP, Lima MLM, (2006) Metabolismos de carboidratos estruturais. In: **Nutrição de ruminantes**. 2 ed. Jaboticabal: SP, cap. 7, p.183- 223.

Oliveira AA (2014) **Manejo do pasto de capim-marandu e suplementação com diferentes fontes de energia na recria de tourinhos Nelore**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal.

Oliveira VS, Santana Neto JA, Valença RL (2013) Características químicas e fisiológicas da fermentação ruminal de bovinos em pastejo – revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano XI, n.20.

Oliveira AA, Azenha MV, Souza FHM, Santana SS, Macedo CHO, Valente ALS, França PM, Reis RA (2012). Impacto do manejo do pasto e estratégias de suplementação na recria de novilhos de corte no período das águas. In: XXII Congresso Brasileiro de Zootecnia, 22., 2012, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: UFMT.

Owens FN, Goetsch AL (1993) **Ruminal Fermentation**. In: Church, D.C. (Eds.), The ruminant animal – digestive, physiology and nutrition. Waveland Press Inc., Long Grove, p. 125-144.

Poppi DP, McLennan SR (1995) Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, v.73, p.278-290.

Poppi D, McLennan SR (2007) Otimizando o desempenho de bovinos em pastejo com suplementação protéica e energética. In: SANTOS, F.A.P. MOURA, J.C. FARIA, V.P. (ed.). Simpósio sobre Bovinocultura de Corte: Requisitos de qualidade na bovinocultura de corte. 6, Piracicaba, 2007. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, Piracicaba, p. 163-181.

Primavesi O, Friguetto RTS, Pedreira MS, Lima MA, Berchieri TT, Demarchi JJAA, Manella MQ, Barbosa PF, Johnson KA, Westberg HH (2004) Técnica do Gás traçador SF6 para medição de campo do metano ruminal em bovinos: adaptações para o Brasil. São Carlos: EMBRAPA - Pecuária Sudeste, 74 p. (Documentos, 39).

Reis RA, Ruggieri AC, Casagrande DR, Pascoa AG (2009) Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.147159.

Robertson JB, Van Soest PJ (1981) **The detergent system of analysis**. In: JAMES, W. P. T., THEANDER, O. (Eds.). The Analysis of Dietary Fibre in Food. Marcel Dekker, NY, Chapter 9, p. 123–158.

Russell JB, O'connor JD, Fox DG, Van Soest PJ, Sniffen CJ (1992) A net carbohydrate and protein system for evaluation cattle diets: ruminal fermentation, **Journal of Animal Science**, v,70, n,12, p,3551-3581.

Santos FAP, Costa DFA, Correia PS, Ramalho TR, (2007) Sistemas intensivos de recria de bovinos com suplementação em pastagens e confinamento. In: SANTOS, F.A.P. MOURA, J.C. FARIA, V.P. (ed.). Simpósio sobre Bovinocultura de Corte: Requisitos de qualidade na bovinocultura de corte. 6, Piracicaba, 2007. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, Piracicaba, p. 183-219.

SAS Institute (2008) SAS/STAT 9.2 User's Guide. SAS Institute, Cary, NC.

Silva JF, Leão MI, (1979). **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livroceres.380p

Sniffen CJ, O'Connor JD, Van Soest PJ, Fox DG, Russell JB (1992) A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3562-3577.

Sollenberger LE, Cherney DJR (1995) Evaluating forage production and quality. **The Science of Grassland Agriculture**. Ames: Iowa State University Press, p. 97-110.

Valadares Filho SC e Pina DS (2011). **Ruminal fermentation**. Ruminant nutrition. 2nd ed. Jaboticabal, SP, Brazil: *Funep*, 151-82.

Valadares Filho SC, Silva LFC, Gionbelli MP, Rotta PP, Marcondes MI, Chizzotti ML, Prados LF (2016) **Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados**. UFLA: Lavras, 327 p.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597.

Van Soest P (1994) Nutritional ecology of the ruminant. 2. Ithaca: **Cornell University Press**, 476 p.

Vieira BR (2011) **Manejo do pastejo e suplementação nas águas e seus efeitos em sistemas de terminação de novilhas na seca**. 2011 139 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, Jaboticabal.

Warner, D., Hatew, B., Podesta, S.C., Klop, G., van Gastelen, S., van Laar, H., Dijkstra, J., Bannink, A., 2016. Effects of nitrogen fertilisation rate and maturity of grass silage on methane emission by lactating dairy cows. *Animal* 10, 34–43. <https://doi.org/10.1017/S1751731115001640>.

Weiner JM, Lovley DR, (1998). Rapid benzene degradation in methanogenic sediments from a petroleum-contaminated aquifer. **Appl. Environ. Microbiol.**, 64(5), pp.1937-1939.

Werner JC, Paulino VT, Cantarella H et al. (1996) Forrageiras. In: Van Raij B, Cantarella H, Quaggio JA. et al. (Eds.). **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: Instituto Agrônomo, p.263-273 (Boletim Técnico, 100).

Werner JC (1986) **Adubação de pastagens**. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia. 49 p. (Boletim Técnico, 18).

CAPÍTULO 3 – APORTES NUTRICIONAIS NA RECRIA DE TOURINHOS SOBRE O DESEMPENHO NA TERMINAÇÃO EM PASTAGENS OU CONFINAMENTO.

RESUMO - Foi avaliar os efeitos da suplementação na recria sobre a terminação de tourinhos Nelore alimentados com DDG substituindo a fonte proteica em dois sistemas de terminação: em pasto ou confinamento convencional durante a época seca do ano. Durante a fase de recria, 80 animais foram mantidos em pasto e submetidos a quatro tratamentos: MM) sal mineral; FS) suplemento múltiplo (proteico - energético) com milho e farelo de soja; SE) suplemento energético e SD) suplemento múltiplo com milho e DDG. Os animais foram terminados em dois sistemas: CC) confinamento convencional e PS) em pasto com suplementação de alto consumo com o concentrado a base de milho e DDG. No confinamento convencional, a dieta foi fornecida na relação 30:70. Foram avaliados o consumo e a digestibilidade dos nutrientes, o desempenho animal e características de carcaça em ambos sistemas de terminação. Houve interação no consumo de matéria seca total ($p = 0,0015$), matéria orgânica ($p = 0,0033$), proteína bruta ($p = 0,0001$), FDN ($p = 0,0121$), carboidratos não fibrosos ($p < 0,001$) e no ganho médio diário ($p = 0,0266$), onde os animais que na recria foram suplementados com suplemento com farelo de soja e foram terminados em pasto apresentaram os menores consumos. A digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, FDN e o rendimento de carcaça diferiram quanto ao sistema de terminação, sendo maiores nos animais terminados em pasto. O peso ao abate, peso de carcaça quente e espessura de gordura também apresentaram diferenças significativas em relação aos sistemas de terminação, porém, nesses casos, a terminação em confinamento foi superior a terminação em pasto. A suplementação com farelo de soja durante a recria e a terminação em pasto diminuem o consumo dos nutrientes e, a terminação em confinamento convencional melhoram as características de carcaça.

Palavras – chave: confinamento, DDG, suplementação múltipla

CHAPTER 3 – NUTRIENT SOURCES IN POST-WEANING STAGES OF YOUNG BULLS OVER ITS PERFORMANCE ON PASTURE OR FEEDLOT FINISHING

ABSTRACT: Effects of different supplements were evaluated in Nellore bulls post-weaning phases and its effects on finishing phases with DDG-fed replacing a protein source at express® or conventional feedlot. During a post-weaning phase, 80 animals were kept in pasture and submitted to four supplementation strategies: MM) mineral salt; SB) supplement with corn and soybean meal; SE) energy supplement-corn and SD) multiple supplement with corn and DDG. The animals were finished in two systems: CC) conventional feedlot and PS) pasture with supplementation of high intake with the same corn-based concentrate and DDG. On conventional feedlot, a corn silage composes the diet in the 30:70 ratio. Nutrient intake and nutrient digestibility, animal performance and carcass characteristics were evaluated. There was interaction among total dry matter intake, organic matter intake, crude protein intake, NDF intake, non-fibrous carbohydrates intake and average daily gain. Animals rearing fed soybean meal supplementation and finished in pasture had lower intake and daily weight gain. Digestibility of dry matter, organic matter, crude protein, NDF and carcass dressing were different between the finishing systems, where animals finished in pastures had higher results than finishing in conventional feedlot. Final body weight, carcass weight and fat thickness also differ significantly between finishing system, but in these cases, the conventional feedlot data was greater than a pasture finished. Soybean meal supplementation during a post- weaning and pasture-finished decreases nutrient intake and carcass traits were improve with feedlot system.

Keywords: DDG, feedlot, multiple supplementation

1. INTRODUÇÃO

As estratégias de suplementação na recria, tem como objetivo obter ganhos adicionais permitindo a entrada de animais mais pesados na fase de terminação, encurtando o ciclo de produção. Segundo Porto et al. (2009), se o objetivo é abater animais com idade inferior a 24 meses num sistema em pasto com forrageiras tropicais, é indispensável o uso de suplementos nas diferentes fases do processo.

A extensão territorial brasileira e as condições climáticas favoráveis permitem a produção de bovinos de corte em sistema de pastejo durante o verão, porém no inverno as condições climáticas limitam o crescimento das plantas tornando necessárias estratégias de manejo como, diminuir a lotação no pasto e o redirecionamento dos animais ao confinamento convencional para maiores ganhos médios de peso e peso corporal final (Barbero et al., 2017; Koscheck, 2016). A intensificação no sistema de recria permite maior consumo de nutrientes e desempenho o qual pode resultar em efeitos na qualidade da carcaça dos animais (Casagrande, 2010). De acordo com Pesonen et al. (2014), o aumento de concentrado na dieta aumenta a relação entre carcaça e componentes não carcaça, pela redução do trato gastrointestinal.

Na literatura, são encontrados muitos estudos sobre a melhorias de produtividade na fase de recria e de terminação (Almeida et al., 2015; Soares et al., 2015; Leite, 2018) porém, estudos sobre a relação entre as fases ainda são escassos. Diante disso, a hipótese deste estudo é que o desempenho animal é influenciado pelo sistema de recria em pastagem associada a suplementação com diferentes aportes nutricionais e que a suplementação de alto consumo em pasto na fase de terminação pode ser uma alternativa ao confinamento convencional sem causar efeitos detrimentais no desempenho animal. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar impacto do uso desses suplementos na recria sob a terminação de tourinhos Nelore alimentados com DDG (substituindo a fonte proteica e parte da fonte energética) na terminação em pasto ou confinamento durante a época seca do ano.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos adotados neste estudo estão de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), em reunião ordinária em 7 de agosto de 2015 (Protocolo nº 12703/15).

2.1. Local e área experimental

O projeto foi conduzido durante as fases de recria e terminação dos animais, no setor de Forragicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), campus de Jaboticabal, Estado de São Paulo, localizada a 21°15'22" Sul, 48°18'58" Oeste, à 595 metros de altitude, onde o clima observado na região é subtropical do tipo WA de acordo com a classificação de Köppen.

A área experimental para avaliação dos animais em pastejo foi formada com *Urochloa brizantha* (Hochst ex A. Rich) Stapf cv Marandu, com 12 piquetes experimentais de áreas de 0,7 e 1,3 ha totalizando 9 ha, além de 1 ha de piquete reserva. Não foi necessária a aplicação de calagem de acordo com os resultados da análise de solo e, foram fertilizados com 180 kg N ha⁻¹.ano⁻¹, parceladas em três aplicações de 60 kg/ha durante o período chuvoso, sendo a ureia a fonte do nitrogênio.

2.2. Experimento, animais e método do pastejo

O experimento foi dividido nas fases de recria (águas) e terminação (seca). A recria dos animais foi conduzida em regime de pastejo, durante o período das águas entre dezembro de 2016 e março de 2017. A terminação foi avaliada durante o período de seca, de maio a agosto de 2017 (Tabela 1), em duas estratégias de terminação: suplementação de alto consumo em pasto e confinamento convencional.

Tabela 1. Dados climáticos de Jaboticabal, SP no período experimental de terminação.

Experimento Terminação						
2017	Temperatura (°C)			Chuva (mm)	Dias de Chuva	Dias de Chuva (>5mm)
	Máxima	Mínima	Média			
Adaptação 01/mai. a 22/mai.	27,19	16,25	20,96	113,4	5	4
23/mai. a 01/jul.	26,65	13,91	19,67	4,7	3	0
02/jul. a 26/jul.	25,61	11,31	17,85	0	0	0
27/jul. a 29/ago.	28,21	13,72	20,38	17,1	4	1

Fonte: Os elementos meteorológicos utilizados neste trabalho foram extraídos de um conjunto de dados pertencentes ao acervo da área de Agrometeorologia do Departamento de Ciências Exatas. As observações feitas na Estação Agroclimatológica do Campus de Jaboticabal são cotadas, digitadas em formato padronizado, realizada a consistência e controle de qualidade. Em seguida são obtidas as medias diárias, mensais e anuais que são repassadas aos usuários.

No período de recria foram utilizados 80 tourinhos Nelore, com peso corporal (PC) inicial médio de 251 kg $\pm$ 13,18 kg, recebendo quatro tipos de suplementação (mistura mineral *ad libitum* e três diferentes suplementos a 0,3% PC) e mantidos em 12 piquetes de capim Marandu, manejados a 25 cm de altura em sistema de lotação contínua e taxa de lotação variada, utilizando a técnica de “*put and take*” (Mott e Lucas, 1952). Foram utilizados 3 piquetes por tratamento, dois piquetes com área de 1,3 ha e 8 animais *testers* por piquetes e um piquete com 0,7 ha e 4 animais *testers* por piquete.

Os animais foram submetidos a 14 dias de adaptação a quatro dietas: MM) mistura mineral *ad libitum*; FS) suplemento múltiplo (proteico - energético) com milho como fonte energética e farelo de soja como fonte proteica; SE) suplemento energético a base de milho e SD) suplemento múltiplo com milho como fonte energética e substituição de 100% da fonte proteica por DDG (41,32% de DDG na MS). O experimento teve 4 períodos de 28 dias, totalizando 112 dias de avaliações.

A produção de forragem durante a recria, nos quatro tratamentos, não diferenciaram entre si e a produção média entre eles foi de 7 t/ha. A proporção de folhas, colmo e material morto também foram iguais entre os tratamentos ($p = 0,3414$; $0,3343$; $0,6448$, respectivamente) apresentando média de 34% de folhas, 27% de colmo e 38% de material morto. Houve diferença entre os períodos experimentais quanto a proporção de folhas e material morto ($p < 0,0001$). A proporção de folha foi

decrecendo com o avanço do experimento enquanto a quantidade de material morto aumentava.

No período de terminação os animais foram distribuídos em dois sistemas de terminação (em pasto e confinamento convencional), metade dos animais de cada tratamento da recria foram destinados ao confinamento convencional e a outra metade permaneceram no pasto. Os quarenta animais que permaneceram no pasto, foram alocados em 12 piquetes, 8 piquetes com 4 animais e 4 piquetes com 2 animais. Os animais foram mantidos em seus lotes de origem, a fim de minimizar potencial efeito de ambiente e foram adaptados às dietas durante 21 dias. Os 40 animais que permaneceram no pasto durante o período de terminação, iniciaram o experimento com $385 \text{ kg} \pm 20,3 \text{ kg}$. A fim de garantir um ganho de peso constante e considerando o fornecimento de nutrientes via pasto (Tabela 2), os animais foram adaptados durante 21 dias e, nesse período, receberam de forma crescente a quantidade de concentrado (aumentando a cada 3 dias, 0,3% PC). O suplemento foi fornecido *ad libitum*, uma vez ao dia, sendo permitidas sobras de 3 a 5% do fornecido total.

Os 40 animais destinados ao confinamento convencional foram alojados em 12 baias de 60 m^2 cada, sendo oito baias com três animais e quatro baias com quatro animais e apresentavam PC médio inicial de $387 \text{ kg} \pm 20 \text{ kg}$, receberam uma dieta com silagem de milho e o mesmo concentrado múltiplo utilizado na terminação em pasto, formulada para ganhos de $1,4 \text{ kg dia}^{-1}$, segundo NRC (1996), mantendo a relação volumoso: concentrado de 30:70. A dieta foi fornecida duas vezes ao dia, 2/3 da dieta total às 7 horas da manhã e, 1/3 da dieta total às 16 horas.

2.3. Massa de forragem e composição morfológica dos pastos na estação seca.

Avaliações de forragem foram feitas a cada 28 dias, durante todo o período de permanência dos animais nos pastos na seca, por meio do corte e coleta de amostras de forragem em cada piquete. A altura média do dossel foi avaliada a cada 7 dias, a partir da medição de 80 pontos aleatórios dentro de cada piquete, e ajustes na taxa de lotação foram realizados para manutenção da altura do pasto em 25 cm.

A estimativa da massa de forragem (MF) do pasto foi realizada por meio do corte e coleta de três amostras de forragem em pontos representativos (altura média) em cada piquete. A forragem foi cortada rente ao solo em área delimitada por aro circular de 0,25m². As amostras foram pesadas inicialmente, depois sub amostradas em 2 partes, sendo uma para determinação da composição morfológica dos pastos, separadas manualmente em material senescente (folha e colmo mais bainha), haste verdes (bainha foliar e colmo) e laminas foliares verdes, e uma para estimativa da disponibilidade de massa seca total (MST, kg MS ha⁻¹) de forragem de cada piquete (Tabela 2). As amostras foram secas em estufa com circulação de ar a 55° C por 72 horas e pesadas. O concentrado utilizado foi o múltiplo contendo 33,76% de DDG na MS (Tabela 3).

Tabela 2. Massa de forragem e frações morfológicas dos pastos de capim Marandu no período da terminação, de maio a agosto de 2017.

Massa de forragem	Tratamentos				Mês				EPM	P valor		
	MM	FS	SE	SD	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.		TR	MÊS	TR X MÊS
MF (t/ha)	5,30	5,40	5,40	5,40	6,60a	6,00b	5,30c	3,60d	4,37	0,9720	<0,0001	0,6636
Folha (%)	18,00	16,80	20,50	18,20	21,57ab	25,66a	15,72bc	10,60c	0,86	0,5292	<0,0001	0,8526
Colmo (%)	12,90	12,20	11,85	12,80	17,86a	11,43b	13,37b	6,92c	0,35	0,6234	<0,0001	0,9966
M Mo. (%)	69,40	70,20	71,20	69,80	60,60c	67,70b	71,20b	83,10a	0,80	0,5848	<0,0001	0,9173
<i>Composição bromatológica</i>												
MO (%)	91,08	90,67	90,5	90,46	90,66ab	91,08a	90,01b	90,96ab	0,13	0,3062	0,0376	0,6175
FDN cp (%)	62,23	63,11	59,55	61,67	65,27a	58,29b	61,02ab	61,97ab	0,59	0,2202	0,0022	0,7031
PB (%)	10,57B	12,34A	12,88A	11,77AB	13,57a	14,40a	9,59b	10,00b	0,22	0,0057	<0,0001	0,8186
EE (%)	2,42	3,25	2,52	3,17	2,86ab	3,72a	2,73ab	2,06b	0,13	0,0589	<0,001	0,4322

FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; MF: massa de forragem; M. Mo: material morto; MO: matéria orgânica; FDNcp: fibra em detergente neutro corrigido proteína; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; MM: mistura mineral; Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, maiúsculas em relação ao sistema de recria e minúsculas em relação aos meses, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$; EPM: erro padrão da média.

A massa de forragem apresentou diferença quanto ao período experimental, diminuindo com o passar dos meses, sendo o resultado esperado em função das condições climáticas e crescimento dos animais que, por sua vez aumentam o consumo.

Tabela 3. Composição do concentrado utilizado no período da terminação, seca 2017.

	Suplemento	Pasto
<i>Macro Ingredientes (%MS)</i>		
DDG	33,76	-
Milho	61,12	-
¹ Núcleo mineral	5,12	-
<i>Total</i>	100	-
<i>Composição bromatológica (%MS)</i>		
MO (%)	93,89	90,54
FDN (%)	41,76	61,44
Energia Bruta (MJ/kg MS)	18,44	17,41
EE (%)	5,01	2,98
PB (%)	18,5	12,33
PDR (%)	60,81	56,16
PNDR (%)	39,19	43,83
Fração A (% PB)	17,45	12,14
Fração B1 (% PB)	2,86	16,61
Fração B2 (%PB)	73,92	49,00
Fração B3 (% PB)	3,00	13,41
Fração C (% PB)	2,77	8,84

¹Composição núcleo: Ca – 6,6 g/kg; P – 3,4 g/kg; S – 8,9 g/kg; Na – 2,5 g/kg; Cu – 17,15 mg/kg; Mn - 47,23mg/kg; Zn - 69,52 mg/kg; Co – 96,6 mg/kg; I - 0,77mg/kg; Se 22,14 mg/kg; monensina sódica – 24,5 mg/kg; suplementação *ad libitum*.

Os animais avaliados no confinamento convencional foram adaptados à dieta durante 21 dias alterando, a cada 3 dias, a relação volumoso:concentrado. As relações de volumoso:concentrado utilizadas na adaptação foram de 72:28, 65:35, 58:42, 51:49, 44:56, 37:63 e, por fim, 30:70 (Tabela 4).

Tabela 4. Composição da dieta de terminação em confinamento convencional.

<i>Ingredientes (% MS)</i>		
Silagem de milho	30,00	-
Milho fubá	42,78	-
DDG	23,63	-
¹ Núcleo mineral	3,58	-
<i>Composição bromatológica(% MS)</i>		
	Dieta	Silagem
MO	85,45	95,65
PB	14,80	8,53
FDN	20,94	58,25
EB (Mj/kg MS)	41,70	17,81
NDT	75,08	63,22

¹Níveis de garantia: Ca – 6,6 g/kg; P – 3,4 g/kg; S – 8,9 g/kg; Na – 2,5 g/kg; Cu – 17,15 mg/kg; Mn - 47,23mg/kg; Zn - 69,52 mg/kg; Co – 96,6 mg/kg; I - 0,77mg/kg; Se 22,14 mg/kg; monensina sódica – 24,5 mg/kg.

Foram avaliados o consumo, digestibilidade, desempenho e características de carcaça destes animais. O concentrado utilizado na terminação foi a base de milho contendo 33,76% de DDG na MS, o mesmo concentrado foi usado no sistema de terminação em pasto e confinamento convencional, contendo 18,5% de PB e 75,57% de NDT.

2.4. Composição química

Para determinação do valor nutritivo da forragem as amostras do pasto que representam a fração consumida pelos animais foram coletadas a cada 28 dias a partir da simulação do pastejo (Sollemberger e Cherney, 1995), coletadas pelo método "hand-plucking" que consiste em colher a forragem após prévia observação do hábito de pastejo dos animais. As amostras frescas foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 55°C por 72 horas. Após a pré - secagem, todas as amostras de forragem, bem como dos suplementos, foram processadas em moinho do tipo Willey, com peneira de malha com crivo de 1mm, exceto as destinadas a análises de FDNi (fibra em detergente neutro indigestível) que foram moídas em 2mm, conforme descrito por Casali et al. (2008).

As amostras foram quantificadas quanto aos teores de matéria seca (MS), material mineral (MM), matéria orgânica (MO), extrato etéreo (EE) e proteína bruta (PB) de acordo com a AOAC (1990). As avaliações de FDN e FDA foram realizadas no aparelho Ankon 2000 (Ankom Technologies, Macedon, NY). Foram ainda

determinados o conteúdo de FDN dos concentrados, tratados com amilase termoestável (Van Soest et al., 1991), a FDN, FDA, FDNcp, lignina (H₂SO₄ 72%), NIDN e NIDA da forragem (Robertson e Van Soest, 1981 e Licitra et al., 1996). O fracionamento da proteína foi realizado de acordo com Licitra et al. (1996).

2.5. Consumo e digestibilidade dos nutrientes

Para as avaliações de consumo e digestibilidade dos animais em pastejo, foram utilizados seis animais por tratamento. O consumo individual de concentrado foi estimado segundo a média consumida do piquete. O consumo de forragem foi estimado com base nos dados de produção fecal e da FDNi como marcador interno. Para estimativa da produção fecal foi utilizado o óxido de cromo (Cr₂O₃) fornecido via oral durante 10 dias, dos quais os sete primeiros foram de adaptação do animal ao marcador e os três finais de coleta de fezes nos diferentes tempos 7 e 13 horas; 9 e 15 horas e 11 e 17 horas, distribuídas as coletas em 3 dias. Para a estimativa do teor de FDNi nas fezes, as amostras foram incubadas *in situ* por 240 horas (Casali et al., 2008) e depois extraídos com detergente neutro.

O consumo dos animais em confinamento foi mensurado diariamente pela diferença entre o fornecido e as sobras de cada baia. Semanalmente, amostrou-se a sobra e o fornecido de cada baia, realizando uma amostra composta ao final do período experimental. As amostras foram secas em estufa a 55°C por 72 horas e, posteriormente moídas em moinho do tipo Willey, com peneira de malha com crivo de 1 e 2 mm, para análises de digestibilidade dos nutrientes e FDNi, respectivamente.

2.6. Desempenho dos animais e características de carcaça

O ganho médio diário dos animais foi obtido por meio das pesagens no início e no final da fase de terminação, após jejum prévio alimentar e hídrico de 12 horas. Os animais do confinamento convencional foram abatidos no dia 28/08/2019 e os animais terminados em pasto foram abatidos no dia 29/08/2019. A carcaça de cada animal foi dividida em duas meias carcaças, que foram pesadas para se obter o peso de carcaça quente (PCQ). Após a pesagem, realizou-se um corte na carcaça esquerda entre a

12^a e 13^a costelas, para mensurações da espessura de gordura subcutânea e área de olho de lombo. A área de olho de lombo foi traçada em transparências para posterior mensuração em um planímetro e a espessura de gordura subcutânea foi avaliada medida com auxílio de um paquímetro digital no ponto correspondente a $\frac{3}{4}$ da distância entre a parte medial da espinha dorsal e a parte lateral da área de olho de lombo (Greiner et al., 2003). O rendimento de carcaça quente foi calculado utilizando o peso de carcaça quente dividido pelo peso final corporal em jejum e então multiplicando o resultado por 100.

2.7. Análise estatística

Para a análise dos dados foi adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado segundo um esquema fatorial 4x2 em que consiste quatro históricos de recria (MM; FS; SE e SD) e duas estratégias de terminação (em pasto e confinamento convencional).

As médias dos dados referentes às coletas periódicas no tempo foram analisadas por meio de modelos mistos pelo PROC MIXED. A escolha da matriz de covariância entre tempos, para cada variável, foi feita por meio do critério de Akaike (AIC) e as análises foram realizadas considerando os suplementos como efeitos fixos. Para comparação de médias foi utilizado o teste Tukey, sendo as mesmas consideradas diferentes quando $p < 0,05$. As análises dos dados foram realizadas por meio do pacote estatístico SAS (2008), versão 9.2.

3. RESULTADOS

O consumo de pasto, apresentado na Tabela 5, não diferiu entre os tratamentos de recria ($p=0,4175$). Os pastos, ao longo do período de avaliação, apresentaram em média 5,40t de MS, com proporções de folha e caule de respectivamente 18,38 e 12,44%, o que propiciou digestibilidade de matéria seca de 65,70%, garantindo o consumo de pasto de 2,01 kg/dia. O consumo de matéria orgânica digestível e NDT, não diferiram quando ao histórico de recria e sistema de terminação.

Tabela 5. Consumo dos nutrientes de bovinos considerando os históricos de recria em pastos de capim Marandu com suplementação nas águas e terminação na seca em dois sistemas, em pasto e confinamento convencional.

Consumo	Histórico de Recria				Terminação		EPM	Recria	P valor Term.	R X T
	MM	FS	SE	SD	CC	PS				
CMSp (kg/d)	2,16	1,64	2,06	2,19	-	-	0,6100	0,4175	-	-
CMOD (kg/d)	5,64 A	4,33B	5,34 A	4,97AB	4,52	5,62	0,1306	<0,01	<0,001	0,9500
CNDT (kg/d)	6,85 A	5,74B	6,65 A	6,27AB	6,96	5,79	0,0345	<0,001	<0,0001	0,5320

MM: mistura mineral; FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; CC:confinamento convencional; PS: terminação em pasto com suplementação de alto consumo; CMSp: consumo de pasto; CMOD: consumo de matéria orgânica digestível; CNDT: consumo de NDT; Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, maiúscula em relação ao histórico de recria e minúscula em relação ao sistema de terminação, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$; EPM: erro padrão da média.

Houve interação significativa entre os históricos de recria e sistema de terminação quanto ao consumo de matéria seca total ($p < 0,0015$), consumo de matéria seca total em %PC ($p = 0,0110$), consumo de matéria orgânica ($p = 0,0033$), consumo de proteína bruta ($p = 0,0001$), consumo de FDNcp ($p = 0,0121$), e consumo de carboidratos não fibrosos ($p < 0,001$). O desdobramento das interações está apresentado na Tabela 6.

Tabela 6. Desdobramento da interação entre os tipos de suplemento utilizados na recria (dez/2016 a mar/2017) e os sistemas de terminação (mai a ago de 2017) sobre o consumo dos nutrientes e ganho médio diário dos animais.

Recria	Terminação								P valor	
	MM	CC FS	SE	SD	MM	FS	PS SE	SD	Term	Interação
CMST (kg/dia)	12,76 Ba	13,76 Aa	12,99 ABa	13,61 ABa	8,91 Ab	7,61 Bb	9,52 Ab	9,00 Ab	<0,001	0,0015
P valor		0,0263					0,0013			
CMST (%PC)	2,77 Aa	2,86 Aa	2,74 Aa	2,89 Aa	1,92 ABb	1,63 Bb	2,02 Ab	1,90 ABb	<0,0001	0,011
P valor		0,318					0,0155			
CMO (kg/dia)	11,09 Aa	11,08 Aa	11,08 Aa	11,08 Aa	8,20 Ab	7,02 Bb	8,73 Ab	8,26 Ab	<0,0001	0,0033
P valor		0,999					0,0001			
CPB (kg/dia)	1,67 Aa	1,67 Aa	1,68 Aa	1,67 Aa	1,32 Bb	1,19 Cb	1,47 Ab	1,36 ABb	<0,0001	0,0001
P valor		0,9985					<0,0001			
CFDNcp (kg/dia)	4,79 Aa	4,79 Aa	4,78 Aa	4,77 Aa	3,28 Ab	2,66 Bb	3,58 Ab	3,37 Ab	<0,0001	0,0121
P valor		0,9991					0,001			
CCNF (kg/dia)	4,19 Aa	4,18 Aa	4,19 Aa	4,20 Aa	3,35 Ab	2,90 Bb	3,41 Ab	3,27 Ab	<0,0001	<0,001
P valor		0,9899					<0,0001			
GMD (kg/dia)	1,381 Aa	1,472 Aa	1,451 Aa	1,379 Aa	1,216 Aa	0,940 Bb	1,142 Bab	1,125 Bab	<0,0001	0,0266
P valor		0,6409					0,0091			

MM: mistura mineral; FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; CMST: consumo de matéria seca total; CMO: consumo de matéria orgânica; CPB: consumo de proteína bruta; CFDNcp: consumo de fibra degradável em detergente neutro; CCNF: consumo de carboidratos não fibrosos; GMD: ganho médio diário; Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, maiúscula em relação ao histórico de recria e minúscula em relação ao sistema de terminação, não diferem entre si (p>0,05).

O consumo dos nutrientes apresentados foram diferentes quanto ao sistema de terminação, sendo inferiores nos animais terminados em pasto. Os animais submetidos ao tratamento FS, quando terminados em pasto, apresentaram os menores consumo de matéria seca e matéria orgânica. Os dados de consumo dos nutrientes apresentaram mesmo comportamento, sendo menores nos animais do tratamento FS terminados em pasto (Tabela 6). Os valores de digestibilidade dos nutrientes estão apresentados na tabela 7. Não houve interação entre os tratamentos de recria e terminação quanto a digestibilidade dos nutrientes.

Tabela 7. Digestibilidade dos nutrientes de bovinos considerando os históricos de recria em pastos de capim Marandu e terminação em dois sistemas, pasto e confinamento.

Digestibilidades (%)	Suplementos				Terminação		EPM	Recria	P valor	
	MM	FS	SE	SD	CC	PS			Term.	R X T
MS	67,78A	61,55B	64,13AB	62,95AB	62,51	65,70	0,43	0,0475	0,0482	0,3425
MO	69,75A	62,08B	64,88AB	63,37B	60,11	69,94	0,45	0,0084	<0,0001	0,4345
PB	66,44A	58,70B	62,74AB	60,29AB	54,21	69,87	0,49	0,0238	<0,0001	0,9174
FDN cp	61,03A	51,50B	59,02AB	51,96B	49,81	61,95	0,34	0,0032	<0,0001	0,3615
EE	52,43	56,97	59,40	52,27	54,39	56,14	1,24	0,6362	0,4347	0,0874
CNF	81,77A	74,46AB	72,76B	78,18AB	74,81	78,77	0,71	0,0111	0,0331	0,0942

MM: mistura mineral; FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; CC: confinamento convencional; PS: terminação em pasto com suplementação de alto consumo; MS: matéria seca; MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; FDN cp: fibra degradável em detergente neutro potencialmente digestível; CNF: carboidratos não fibrosos; EE: extrato etéreo; Médias na horizontal seguidas pela mesma letra maiúscula, em relação ao histórico de recria e minúscula ao sistema de terminação, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$; EPM: erro padrão da média.

Houve diferença significativa quanto ao sistema de terminação na digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta e FDNcp. Todos os nutrientes citados apresentaram maior digestibilidade nos animais terminados em pasto. No confinamento, a relação da dieta de 30:70 permitiu o consumo de 20,94% FDN com digestibilidade de 49,81% e digestibilidade da MS e da MO de 62,04 e 60,11%, respectivamente.

O peso final, peso de carcaça quente, rendimento de carcaça e espessura de gordura diferiram quanto ao sistema de terminação. Com exceção do rendimento de carcaça, as variáveis citadas foram maiores em animais terminados em confinamento (Tabela 8).

Tabela 8. Médias de desempenho e características de carcaça de bovinos considerando os históricos de recria em pastos de capim Marandu e terminação em dois sistemas, pasto e confinamento.

	Recria				Terminação		EPM	Recria	Terminação	R X T
	MM	FS	SE	SD	CC	PS				
Pi (kg)	376	393	387	389	387	385	2,286	0,0756	0,6746	0,9651
Pf (kg)	503	511	514	508	525	493	3,800	0,7154	<0,0001	0,3815
PCQ (kg)	280	288	292	287	293	281	2,213	0,2366	0,0049	0,5626
RC (%)	55,60B	56,50A	56,85A	56,36A	55,80	56,92	0,162	0,0253	0,0003	0,5000
AOL (cm ²)	71,71	74,81	76,07	76,36	74,18	75,45	0,862	0,2391	0,4488	0,7746
Eg (mm)	4,10	4,57	4,46	3,88	5,19	3,35	0,189	0,2691	<0,0001	0,6807

MM: mistura mineral; FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; CC: confinamento convencional; PS: terminação em pasto com suplementação de alto consumo; Pi: peso inicial; Pf: peso final; GMD: ganho médio diário; PCQ: peso de carcaça quente; RC: rendimento de carcaça; AOL: área de olho de lombo; Eg: espessura de gordura; Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, maiúscula em relação ao histórico de recria e minúscula em relação ao sistema de terminação, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$; EPM: erro padrão da média.

O ganho médio diário apresentou interação entre o suplemento utilizado na recria e o sistema de terminação ($p=0,0266$). A interação entre os tratamentos está representada na Tabela 6. O ganho médio diário foi menor nos animais que receberam FS na recria e foram terminados em pasto (PS). Apesar do menor ganho de peso médio diário e menor consumo de nutrientes os animais do tratamento FS não diferiram quanto ao peso final.

A taxa de lotação, em unidade animal por hectare, dos animais terminados em pasto não apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($p = 0,0981$), os valores encontrados foram 2,94; 3,16; 3,35 e 3,12 nos tratamentos MM; FS; SE e SD, respectivamente. O ganho por área na terminação em pasto também não diferiu entre os tratamentos ($p = 0,5652$), os valores, em quilogramas por hectare, foram 2,74; 3,18; 4,03 e 3,54 nos animais dos tratamentos MM; FS, SE e SD, respectivamente.

4. DISCUSSÃO

O consumo de pasto é dependente de fatores nutricionais e não nutricionais (da Silva et al., 2013; Poppi et al., 1987). Os fatores não nutricionais são: estrutura de dossel, seleção animal, tempo de pastejo, tamanho e taxa de bocado, enquanto os fatores nutricionais dizem respeito a composição química do pasto, digestibilidade, principalmente ligado a fibra, que causa a saciedade física devido o enchimento do rúmen (da Silva et al., 2013; Reis, et al., 2009, Poppi et al., 1987). Um fator limitante de consumo é a quantidade de energia da dieta, uma vez que esta promove a saciedade fisiológica no animal diminuindo o consumo voluntário. Tal fato ocorre quando a dieta contém alto teor de concentrado, com nutrientes de rápida degradação e alta digestibilidade (Basso et al., 2011; Van Soest e Mertens, 1984). Neste caso, as exigências do animal são atendidas com menor consumo da dieta.

Os animais terminados em pasto apresentaram menor consumo de matéria seca total, e este comportamento ocorreu porque os animais em confinamento convencional foram estimulados ao consumo. Em pasto o trato era fornecido uma vez ao dia, as 9 horas da manhã, enquanto os animais em confinamento convencional recebiam trato duas vezes ao dia, resultando na diferença encontrada entre o CMST dos animais terminados em pasto e confinamento convencional. Os animais

terminados em pasto, uma vez que não foram estimulados ao consumo, como os animais do confinamento convencional, tinham fornecimento de concentrado à vontade, com controle de sobras de 3 a 5%, estabilizaram o consumo conforme sua saciedade.

A capacidade de utilização do nutriente em maior ou menor quantidade define a digestibilidade do alimento. Segundo Coelho da Silva e Leão (1979) e Reis et al. (2013), a digestibilidade está ligado a características do alimento e não ao animal (Basso et al., 2011). Na terminação em confinamento os consumos dos nutrientes foram maiores em comparação aos observados no pasto, uma vez que no confinamento convencional houve o estímulo ao consumo. Em pasto, o fornecimento de concentrado foi *ad libitum*, ou seja, os animais podiam ter consumido o concentrado até atingirem a saciedade energética alternando com o consumo de pasto.

A digestibilidade dos nutrientes foi maior nos animais mantidos no pasto. Segundo Van Soest (1994), altos teores de energia podem diminuir a digestibilidade em função da falta de fibra efetiva, diminuindo a ruminação e podendo causar distúrbios metabólicos, porém, os ruminantes têm alta capacidade de adaptação (Schiwaiger et al., 2013; Allen et al., 2009). Não foram observados indícios de distúrbios metabólicos nos animais, uma vez que diariamente, foi realizada a avaliação de consumo dos animais sem ocorrência de queda brusca, e as fezes não apresentaram mudanças de textura, além disso, não houve alterações de ganhos de peso dos animais.

No pasto, os animais que durante a recria foram suplementados com suplemento com farelo de soja consumiram menos matéria seca total. A digestibilidade dos nutrientes foi maior nos animais terminados em pasto, o que pode ser explicada pela seleção do animal em pastejo quanto a dieta fornecida. No confinamento convencional, a seleção foi menor, obrigatoriamente os animais do confinamento consumiram 30% de volumoso, relação ofertada no cocho, fato comprovado pela avaliação diária de cocho a qual não foi observado comportamento seletivo nas sobras.

A digestibilidade do FDN foi menor no confinamento convencional, o que pode ser explicado pelo processo de ensilagem. Segundo Mühlbach (1999), no interior do silo ocorre processos relacionados a planta (respiração), ação de microrganismos e

reações químicas. A diminuição da hemicelulose, fração mais digestível da fibra, é decorrente da hidrólise ácida causada pela produção de ácido láctico durante a fase de fermentação, concentrando as frações mais indigestíveis da fibra. Essas perdas são inevitáveis ao processo e podem atingir 15% (McDonald, 1991). A menor digestibilidade da FDN influenciou a digestibilidade da MS e da MO dos animais no confinamento convencional.

A proteína microbiana é uma das melhores fontes para atender o requerimento de aminoácidos dos animais (Verbic, 2002). Por essa razão, se faz importante a suplementação da dieta a fim de potencializar a produção de proteína microbiana e, em consequência, o desempenho animal. Isso depende da disponibilidade de carboidratos e nitrogênio amoniacal ruminal (NRC, 2001), atingindo maior crescimento com a sincronização de energia e nitrogênio degradável no rúmen, permitindo maior eficiência do uso de nitrogênio (Detmann et al., 2014; Dewhurst et al., 2000). Ganhos de 1,4kg/dia são alcançados em animais terminados em confinamento convencional com produção de 707g Pmic/dia e ganhos de 1,1kg/dia são alcançados com produção de 682g Pmic/dia, nos animais em regime de pasto (Valadares et al., 2016). De acordo com os autores, no pasto, o CNDT de 5,79 e CPB de 1,17kg/dia são necessários para atingir tal ganho, valores que corroboram com os resultados apresentados no trabalho. Em estudos brasileiros do desempenho de Nelores terminados em pastagens recebendo suplementação de alto consumo (Koscheck, 2016; Ruth et al., 2017; Barbero et al., 2017 e Hoffmann, 2019), ganho de peso médio diário dos animais foram inferiores aos encontrados no presente trabalho. No confinamento convencional o CMS e CPB foram superiores aos recomendados pelos autores, porém, o CNDT está de acordo com o recomendado.

No pasto, mesmo com ganho de peso inferior em comparação aos animais terminados em confinamento, o rendimento e peso de carcaça dos animais em pasto foram satisfatórios, superiores a 230kg, mínimo para que não haja penalização pelo frigorífico (Baba et al., 2016). Os animais apresentaram menor tamanho de componente não carcaça, aumentando assim o rendimento, o que pode ter levado a maiores ganhos de carcaça (Moretti, 2015; Koscheck, 2017).

O peso ao abate tem relação direta com o peso de carcaça quente (Correia et al., 2016). Considerando que o peso de carcaça quente é o principal componente da

relação comercial entre o produtor e frigorífico (Baba et al., 2016), é essencial que esta atinja um mínimo de 230kg, para evitar penalizações da carcaça pelo frigorífico. Em todos os tratamentos estudados, o peso de carcaça quente foi superior aos valores sugeridos por Baba et al. (2016).

O rendimento de carcaça foi superior nos animais terminados em pasto, pois, nesse sistema, os animais tiveram autonomia para modularem o consumo de forragem. Por outro lado, os animais do confinamento, com dieta 30:70, por regra consumiram 30% de volumoso na dieta, com pequenas variações em decorrência de possível seleção, e esse consumo tem influência no tamanho do trato gastrointestinal (Vieira et al., 2016).

Segundo Fox et al. (1972), Moretti (2015) e Koscheck (2016), o plano nutricional durante a recria e terminação afeta a proporção de carcaça, componentes não carcaça e conteúdo do trato gastrointestinal. Essas mudanças podem ser atribuídas a maior digestibilidade de nutrientes (Mertens, 1987), pelo menor consumo de forragem em função da suplementação *ad libitum* (Paterson et al., 1994) e comportamento seletivo.

Quanto ao grau de acabamento, os frigoríficos exigem carcaças com espessura de gordura subcutânea entre 3 – 6 mm pois, graus de acabamento menores que 3 mm podem causar escurecimento da parte externa dos músculos exposto ao resfriamento, conferindo aspecto visual indesejável prejudicando a comercialização, e aumento da perda ao resfriamento, decorrente da maior perda de líquido, entre outros fatores (Muller, 1987; Restle et al. 1997; Restle et al, 1999b; Costa et al. 2002, Donicht et al., 2011). Acima de 6 mm o prejuízo para o produtor se dá pela toaleta, antes da pesagem da carcaça e, para o frigorífico, se dá pelo maior custo operacional envolvido nesse processo (Costa et al., 2002). Os animais dos dois sistemas de terminação apresentaram resultados adequados quanto a espessura de gordura, considerando os valores exigidos.

5. CONCLUSÃO

A utilização de suplemento com farelo de soja na recria não é uma alternativa viável uma vez que diminui o consumo de nutrientes quando os animais são terminados em pastagem, diminuindo o ganho médio diário dos animais.

Dentro do mesmo sistema de terminação, as estratégias de suplementação utilizadas na recria não interferem no desempenho e qualidade de carcaça, podendo ser utilizadas conforme objetivo de produção.

Não foi possível concluir a eficiência do sistema de terminação em pasto com suplementação de alto consumo, uma vez que, no manejo alimentar, os animais do confinamento convencional foram estimulados ao consumo, o que pode ter influenciado nos resultados de desempenho.

6. LITERATURA CITADA

Allen MS, Bradford BJ, Oba M. (2009). Board-invited review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 87, p. 3317-3334.

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis**. 15 ed., Arlington, 1990. 1117 p.

ARC – Agricultural Research Council (1980). The nutrient requirement of ruminant livestock. Technical Review by Agricultural Research Council Working Party. **Commonwealth Agricultural Bureau**, Slough, UK, p. 351.

Baba Y, Kallas Z, Costa-Font M, Gil JM, Realini CE, (2016). Impact of hedonic evaluation on consumers' preferences for beef attributes including its enrichment with n-3 and CLA fatty acids. **Meat Science**, 111 (2016), pp. 9-17.

Barbero RP, Malheiros EB, Nave RLG, Mulliniks JT, Delevatti LM, Hoscheck JFW, Romanzini EP, Ferrari AC, Renesto DM, Berchielli TT, Ruggieri AC, Reis RA (2017) Influence of post-weaning management system during the finishing phase on grasslands or feedlot on aiming to improvement of the beef cattle production. **Agricultural systems**, v. 153, p. 23-31.

Basso KC, Lempp B, Baldi F, Azenha MV, Oliveira AA, Reis RA. (2011). Anatomia foliar do capim marandu submetido a alturas de pastejo sob lotação contínua. In. **Proceedings of the III International Symposium on Forage Breeding**, November 7th to 11th / Bonito, MS / Brazil.

Buttrey EK, McCollum FT, Jenkins KH, Patterson JM, Clark BE, Luebke MK, Lawrence TE, MacDonald JC, (2012). Use of dried distillers grains throughout a beef production system: Effects on stocker and finishing performance, carcass characteristics, and fatty acid composition of beef. **J. Anim. Sci.** 90:2381-2393.

Calsamiglia S, Ferret A, Reynolds CK, Kristensen NB, Van Vuuren AM, (2010). Strategies for optimizing nitrogen use by ruminants. **Animal**, 4(7), pp.1184-1196.

Casali AO, Detmann E, Valadares Filho SC, Pereira JC, Henriques LT, Freitas SG, Paulino MF (2008) Influência do tempo de incubação e do tamanho de partículas sobre os teores de compostos indigestíveis em alimentos e fezes bovinas obtidos por procedimento in situ. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 2, p. 335-342,.

Coelho da Silva JF, Leão MI (1979) **Fundamentos de nutrição dos ruminantes**. Piracicaba: Livroceres, 380 p.

Correia BR, Carvalho GGP, Oliveira RL, Pires AJV, Ribeiro OL, Silva RR, Leão AG, Siminato JI, Carvalho BMA, (2016). Production and quality of beef from Young bulls fed diets supplemented with peanut cake. **Meat Science**, 188, p. 157 – 163.

Costa EC, Restle J, Vaz FN, Alves Filho DC, Bernardes RALC, Kuss F, (2002). Características da carcaça de novilhos Red Angus superprecoces abatidos com diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.1, p.119-128.

de Almeida, R. G., Macedo, M. C. M., Zimmer, A. H., Kichel, A. N., & de ARAUJO, A. R. (2015). Sistemas mistos como alternativa para a intensificação da produção animal em pastagens: integração lavoura-pecuária e lavoura-pecuária-floresta. In *Embrapa Gado de Corte-Artigo em anais de congresso (ALICE)*. In: **SIMPOSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM**, 27, 2015, Piracicaba. Sistemas de produção, intensificação e sustentabilidade da produção animal. anais. Piracicaba: FEALQ, 2015.

Da Silva SC, Gimenes FMA, Sarmento DOL, Sbrissia AF, Oliveira DE Hernandez-Garay A A, Pires AV. 2013. Grazing behavior, herbage intake and animal performance of beef cattle heifers on marandu palisade grass subjected to intensities of continuous stocking management. **Journal of Agricultural Science** 151, 727.

Detmann E, Valente EEL, Batista ED, Huhtanen P. (2014). A valuation of the performance and efficiency of nitrogen utilization in cattle fed tropical grass pastures with supplementation. **Liv. Sci.**, 162: 141-153.

Detmann E, Paulino MF, Valadares Filho SC, Cecon PR, Zervoudakis JT, Cabral LS, Gonçalves LC, Valadares RFD, (2005). Níveis de proteína em suplementos para terminação de bovinos em pastejo durante o período de transição seca/águas: digestibilidade aparente e parâmetros do metabolismo ruminal e dos compostos nitrogenados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 4, p. 1380-1391.

Detmann E, Paulino MF, Mantovani HC, Valadares Filho SC, Sampaio CB, Souza MA, Lazzarini I, Detmann KSC (2009) Parameterization of ruminal fibre degradation in low-quality tropical forage using Michaelis–Menten kinetics. **Livestock Science**, v. 126, p. 136–146.

Dewhurst RJ, Davies DR e Merry RJ. (2000). Microbialprotein supply from the rumen. **Anim. Feed Sci. Technol.** 85:1–21.

Donicht PAMM, Restle J, Freitas LS, Callegaro AM, Weise MS, Brondani IL. (2011) Fat sources in diets for feedlot-finished steers - carcass and meat characteristics. **Ciência Animal Brasileira**, v. 12 n. 3.

Ferrel CL (1988) Contribution of visceral organs to animal energy expenditures. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 23-34.

Fox DG, Johnson RR, Preston RL, Dockerty TR, Klosterman EW, (1972). Protein and energy utilization during compensatory growth in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 34, p. 310-318.

Greiner SP, Rouse GH, Wilson DE, Cundiff LV, Wheeler TL, (2003). The relationship between ultrasound measurements and carcass fat thickness and longissimus muscle area in beef cattle. **Journal of Animal Science**, 81, 676–682.

Hoffman A (2019) **Eficiência da Substituição do Farelo de Algodão por Ddgs na Produção de Bovinos de Corte**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal.

Koscheck JFW (2016). **Intensificação do manejo do pasto e uso da suplementação nos parâmetros produtivos na recria e terminação de bovinos de corte**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal.

Leite RG (2018). **Uso de DDGS na suplementação proteico energética em bovinos em pastejo na estação chuvosa**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal.

Licitra G, Hernandez TM, Van Soest PJ (1996) Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. **Animal Science Feed Technology**. p. 57 - 347.

Lodge SL, Stock RA, Klopfenstein TJ, Shain DH, Herold DW, (1997). Evaluation of corn and sorghum distillers byproducts. **J. Anim. Sci.** 75:37–43.

Lopes LS, Ladeira MM, Machado Neto OR, Paulino PVR, Chizzotti ML, Ramos EM, Oliveira DD, (2012). Características de carcaça e cortes comerciais de tourinhos Red Norte e Nelore terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 41(4), 970-977.

MacDonald JC, Klopfenstein TJ, Erickson GE, Griffin WA. (2007). Effects of dried distillers grains and equivalent undegradable intake protein or ether extract on performance and forage intake of heifers grazing smooth brome grass pastures. **J. Anim. Sci.** 85:2614–2624.

McDonald P, Henderson N, Heron S. (1991). **The biochemistry of silage**. 2.ed. Marlow: Chalcombe. 339p.

Mertens DR, (1987). Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. **Journal Animal Science**, 64:1548-1558.

Mertens DR, (1992) Análise De Fibra E Sua Utilização Na Avaliação E Formulação De Rações. In: Simpósio Internacional De Ruminantes, Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Zootecnia, 29., Lavras. **Anais...** Lavras: Sbz. P.188-219.

Moretti MH, (2015). **Estratégias alimentares para a recria e terminação de tourinhos Nelore**. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Jaboticabal.

Mott GO, Lucas HL (1952) The design conduct and interpretation of grazing trials on cultivated and improved pastures. In: International Grassland Congress, 6, Pensylvania. **Proceedings ...**Pensylvania State College, 1952. p.1380-1395.

Mühlbach PRF (2003) Silagem: produção com controle de perdas. In: Lobato JFP, Barcelos JOJ, Hessler AM (Eds.) **Produção de bovinos de corte**. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica, 1999. p.97-120.

Muller L, (1987). **Normas para avaliação de carcaças e concurso de carcaças de novilhos**. 2 ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria. 31p.

NRC – National Research Council (2000). **Nutrient requirements of beef cattle**. 8th ed. Washington: National Academic Press, 234p.

NRC - National Research Council (2001) **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, DC: Academic Press, 381p.

Pesonen M, Joki Tokola E, Huuskonen A, (2014). Effect of concentrate proportion and protein supplementation on performance of growing and finishing crossbred bulls feed a whole-crop barley silage-based diet. **Anim. Prod. Sci.** 54, 1399–1404.

Poppi DP, Hughes TP, L'huillier PJ, (1987) Intake of pasture by grazing ruminants. In: NICOL, A. M. (Ed.). **Livestock feeding on pasture**. Hamilton: New Zealand Society of Animal Production. 7. p. 55-64. (Occasional publication, no 10).

Poppi DP, McLennan SR (1995) Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, v.73, p.278-290.

Porto MO, Paulino MF, Valadares Filho SC, Sales MFL, Leão MI, Couto VRM, (2009). Fontes suplementares de proteína para novilhos mestiços em recria em pastagens de capim-braquiária no período das águas: desempenho produtivo e econômico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 8, p. 1553-1560.

Restle JP, Keplin LAS, Vaz FN, (1997). Características quantitativas da carcaça de novilhos Charolês abatidos com diferentes pesos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 8, p.851-856.

Restle J, Brondani IL, Bernardes RAC, (1999) O novilho superprecoce. In: RESTLE, J. (Ed.) **Confinamento, pastagens e suplementação para produção de bovinos de corte**. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, p.191-214.

Reis RA, Valente ALS, Santos SMC, de Souza FHM, Berchielli TT., Ruggieri AC, Santana SS, Serra JM (2013). Performance of young Nelore bulls grazing marandu grass pasture at different heights. **Tropical Grasslands**, v. 1, p. 114-115, 2013.

Reis RA, Ruggieri AC, Casagrande DR, Páscoa AG, (2009) Suplementação da dieta de bovinos de corte como estratégia do manejo das pastagens. **Revista Brasileira de Zootecnia**, suplemento especial; v.38, p.147159.

Robertson JB, Van Soest PJ, (1975). A note on digestibility in sheep as influenced by level of intake. **Animal Production**, 21, p. 8992.

Robertson JB, Van Soest PJ (1981) **The detergent system of analysis**. In: James, w. P. T., Theander, o. (Eds.). *The Analysis of Dietary Fibre in Food*. Marcel Dekker, NY, Chapter 9, p. 123–158.

Roth MTP, Resende FD, Oliveira IM, Fernandes RM, Custódio L e Siqueira GR (2017). Does supplementation during previous phase influence performance during the growing and finishing phase in Nellore cattle?. **Livestock science**, 204, 122-128.

SAS Institute (2008) SAS/STAT 9.2 User's Guide. SAS Institute, Cary, NC.

Schwaiger T, Beauchemin KA, Penner GB. (2013). The duration of time that beef cattle are fed a high-grain diet affects the recovery from a bout of ruminal acidosis: dry matter intake and ruminal fermentation. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 12, p. 5729-5742.

Soares JCDR, Barcellos JOJ, Queiroz Filho LAV, Oaigen RP, Canozzi MEA, Camargo CM, Drumond LCD, Braccini Neto, J. (2015). Avaliação econômica da terminação de bovinos de corte em pastagem irrigada. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia= Brazilian journal of veterinary and animal sciences**. Belo Horizonte. Vol. 67, n. 4 (jul./ago. 2015), p. 1096-1104.

Sollenberger LE, Cherney DJR (1995) Evaluating forage production and quality. **The Science of Grassland Agriculture**. Ames: Iowa State University Press, p. 97-110.

Valadares Filho SC, Silva LFC, Gionbelli MP, Rotta PP, Marcondes MI, Chizzotti ML, Prados LF (2016) **Exigências nutricionais de zebuínos puros e cruzados**. UFLA: Lavras, 327 p.

Van Soest PJ, Mertens DR, (1984) The use of neutral detergent fiber versus acid detergent fiber in balancing dairy rations. In: TECHNICAL SYMPOSIUM, 1984, Fresno. **Proceedings...** Fresno: Monsanto - Nutrition Chemicals Division. p.75-92.

Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA (1991) Methods for dietary fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3583-3597.

Van Soest P (1994) **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. Ithaca: Cornell University Press, 476 p.

Vieira BR, Azenha MV, Casagrande DR, Costa DFA, Ruggieri AC, Berchielli TT, Reis RA (2017). Ingestive behavior of supplemented Nellore heifers grazing palisadegrass pastures managed with different sward heights. **Animal Science Journal**, 88(4), 696-704.

CAPÍTULO 4 – REGULAÇÃO NUTRIGENÔMICA DO METABOLISMO LIPÍDICO DO TECIDO MUSCULAR DE BOVINOS NELORE

RESUMO - O objetivo desse trabalho foi avaliar a expressão de genes diferencial de genes relacionados ao metabolismo de lipídicos em tecido muscular de bovinos Nelore, recriados em pasto, com suplementos de diferentes aportes nutricionais e terminados em dois sistemas de confinamento (convencional e em pasto com suplementação de alto consumo). Para isso, foram coletadas amostras de 80 tourinhos Nelore recriados em pastagem de capim Marandu recebendo suplementação mineral *ad libitum*; suplemento múltiplo (proteico - energético) com milho e farelo de soja; suplemento energético e suplemento múltiplo com DDG a 0,3% PC. Na terminação, metade dos animais de cada tratamento foram divididos no sistema de terminação em pasto recebendo suplementação de alto consumo e confinamento convencional. A quantificação da expressão gênica foi realizada por meio de qRT-PCR seguindo o método do Ct comparativo. Os genes alvos estudados foram *ACACA*, *ACOX*, *SREBP-1c*, *PPAR- α* , *SCD1*, *LPL*, *FABP4*, *CPT2*, *FASN*, *PPAR- γ* , e os genes de referência foram *β -actina* e *GAPDH*.. Os dados foram analisados com o programa SAS e aplicado teste de Tukey para comparação de médias ($P < 0,05$). O gene *SREBP1c* teve sua maior expressão em animais terminados em confinamento convencional, mesmo comportamento do gene *FABP4*, mais expresso na carne de animais terminados em confinamento convencional. Os genes *CPT2* e *LPL* foram mais expressos em animais terminados em pasto. A suplementação energética aumenta a expressão dos genes *FABP4* e *LPL* e a terminação em confinamento convencional aumenta a expressão do *SREBP-1c*, que regula a síntese de lipídeos.

Palavras – chave: amido, DDG, qRT-PCR; expressão gênica; *SREBP-1c*

CHAPTER 4 – NUTRIGENOMIC REGULATION OF LIPIDIC METABOLISM FROM NELORE BULL MUSCLE TISSUE

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate the gene expression related to lipid metabolism in Nellore beef cattle grazed in post weaning phase in pasture receiving different nutritional sources and finished in two systems. Samples were collected from 80 Nellore bulls reared in Maranda grass pasture receiving mineral supplementation *ad libitum*; multiple supplement with maize and soybean meal; energy supplement and multiple supplement with DDG at 0.3% BW. At finishing phase, half of the animals from each treatment were divided into the pasture finishing system receiving high concentrate and conventional feedlot. The gene expression were measure with qRT-PCR equipment using Ct comparative method. Target genes study were *ACACA*, *ACOX*, *SREBP-1c*, *PPAR- α* , *SCD1*, *LPL*, *FABP4*, *CPT2*, *FASN*, *PPAR- γ* and reference genes were *β -actin* and *GAPDH*. Data were analyzed using SAS software and Tukey test for comparison of means ($P < 0.05$). The *SREBP1c* gene had highest expression in animals finished in conventional feedlot, same behavior of the *FABP4* gene, more expressed in animals fed indoor. The *CPT2* and *LPL* genes were most expressed in pasture-finished animals. Energy supplementation increase *FABP4* e *LPL* expression and the finishing in conventional feedlot increase *SREBP1c* expression.

Keywords: DDG, gene expression, qRT-PCR, *SREBP-1c*, starch

1. INTRODUÇÃO

A deposição do tecido adiposo é dependente da hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos e, sua formação e composição é regulada por um complexo processo de multifatores (Ladeira et al., 2014). Fatores de transcrição, como peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) α e γ e sterol regulatory elemento binding protein-1c (*SREBP-1c*) regulam o processo a partir dos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) (Feige et al., 2006) que agem como moléculas bioativas para a expressão dos genes. Esses genes de transcrição estão envolvidos na diferenciação dos adipócitos, do colesterol e síntese de ácidos graxos e ativam outros genes requeridos ao metabolismo de lipídeos (Shimano et al., 2001). Os genes envolvidos no metabolismos de lipídeos são ligados ao transporte (lipoproteína lipase - *LPL*, proteínas de ligação de ácidos graxos 4 - *FABP4* e cartinina palmitoil transferase - *CPT2*), síntese *de novo* (ácido graxo sintase - *FASN*, acilCoA oxidase - *ACOX*, *acetilCoA carboxilase* α - *ACACA*) e degradação (*SCD1* - esteroil-CoAdessaturase) (NCBI, GenBank).

A nutrição tem papel importante no depósito de gordura do animal, podendo inibir ou estimular a expressão de genes. Os PUFAs da dieta podem inibir a expressão de genes de transcrição alterando a síntese (Corazzin et al., 2013). Os reguladores de adipogênese, induzem os genes envolvidos no metabolismo de lipídeos (Graugnard et al., 2009), são expressos no estágio final da diferenciação de adipócitos (Nakamura et al., 2014) e são regulados por componentes da dieta.

Os ácidos graxos monoinsaturados também funcionam como moléculas bioativas e diminuem a expressão de *LPL* e, em consequência diminui o colesterol circulante (Wollett et al., 1992). Outro gene que tem sua expressão regulada pelos ácidos graxos é o *FABP4*, gene associado ao marmoreio, depósito de gordura subcutânea e composição dos ácidos graxos. Em estudos com bovinos de raças asiáticas em sistema de confinamento convencional, sua expressão foi estimulada (Maharani et al., 2012; Shi et al., 2012).

Na literatura, são comuns estudos com a adição de óleos na ração e os efeitos na expressão dos genes, porém há uma escassez de informação em relação a dietas convencionais. Diante disso, a hipótese desse trabalho é que a suplementação energética aumentará a expressão dos genes *FABP4* e *LPL* e a terminação em

confinamento convencional aumenta a expressão do *SREBP-1c*, que regula a síntese de lipídeos. Dessa forma, a suplementação energética e proteico - energética na recria, poderá alterar a expressão de genes relacionados ao metabolismo de lipídeos na carne. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a expressão de genes ligados ao metabolismo de lipídeos na carne de bovinos Nelore, recriados em pasto, recebendo suplementação mineral (controle), energética, múltipla (proteico – energética) a base de milho e farelo de soja, e suplementação múltipla a base de milho e grão seco de destilaria (DDG) em substituição ao farelo de soja e terminados em pasto ou confinamento convencional.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) de protocolo número 12703/15. O experimento foi desenvolvido durante a recria e terminação dos animais, no setor de Forragicultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária (FCAV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), campus de Jaboticabal, Estado de São Paulo.

Os animais *Bos taurus indicus* da raça Nelore foram recriados em pastagem de *Urochloa brizantha* (Hochst ex A. Rich) Stapf cv Marandu, com 12 piquetes experimentais totalizando 12 hectares. Os pastos foram fertilizados com 180 kg N ha⁻¹.ano⁻¹, parceladas em três aplicações de 60 kg/ha durante o período chuvoso, sendo a ureia a fonte do nitrogênio. De acordo com a análise do solo, não houve necessidade de manejo de correção.

2.1. Tratamentos

Foram utilizados 80 tourinhos Nelore com idade média inicial de 12 meses. O experimento foi dividido nas fases de recria (águas) e terminação (seca). Na recria, os animais foram sorteados ao acaso em quatro tratamentos com três repetições (piquetes) e arranjados em delineamento inteiramente casualizado, durante quatro períodos experimentais de 28 dias cada, totalizando 112 dias. Inicialmente, os animais foram submetidos a 14 dias de adaptação a quatro dietas, recebendo de forma crescente a quantidade de concentrado até atingirem 0,3% do peso corporal

(PC): 1) mistura mineral (ad libidum); 2) suplemento múltiplo (proteico – energético) com milho como fonte energética e farelo de soja como fonte proteica (PB 16,05% e NDT 68,22%); 3) suplemento energético a base de milho (PB 7,08% e NDT 73,71%) e 4) suplemento múltiplo com milho como fonte energética e substituição de 100% da fonte proteica por DDG, ou seja, 41,32% de DDG na matéria seca (MS) do suplemento (PB 16,02% e NDT 70,07%).

No período de terminação os animais foram distribuídos em dois sistemas (em pasto e confinamento convencional), sendo que, 40 animais permaneceram no pasto, em 12 piquetes e 40 animais foram alojados em 12 baias do confinamento, ambos distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições, em função do histórico de recria. O mesmo concentrado, a base de milho contendo 33,76% de DDG na MS, foi utilizado tanto no pasto quanto no confinamento convencional.

O concentrado único fornecido aos animais foi formulado com 18,5% de PB e 75,57% de NDT. Em ambos sistemas de terminação, os animais foram adaptados a nova dieta durante 21 dias. Em pasto, o concentrado foi fornecido de forma crescente durante a adaptação até estabilizarem o consumo, garantindo ganho de peso médio diário de 1,2kg. No confinamento convencional, a relação final da dieta foi 30:70, tendo a silagem como volumoso, e durante a adaptação, essa relação aumentava a cada 3 dias, afim de chegar a relação final desejada de 30:70. Os animais foram abatidos com idade média de 22 meses.

Os tratamentos foram nomeados no presente trabalho como: FC) farelo de soja confinamento (animais suplementados na recria com concentrado a base de milho e farelo de soja e terminados em confinamento); FP) farelo de soja pasto (animais suplementados na recria com concentrado a base de milho e farelo de soja e terminados em pasto); EC) energético confinamento (animais suplementados na recria com concentrado energético e terminados em confinamento); EP) energético pasto (animais suplementados na recria com concentrado energético e terminados em pasto); DC) DDG confinamento (animais suplementados na recria com concentrado a base de milho e DDG e terminados em confinamento); DP) DDG pasto (animais suplementados na recria com concentrado a base de milho e DDG e terminados em pasto); SC) sal confinamento (animais recriados em pasto

suplementados com sal mineral e terminados em confinamento) e controle SP) sal pasto (animais recriados suplementados com sal mineral e terminados em pasto).

2.2. Expressão gênica

2.2.1. Coleta de amostras

Animais de mesmo tratamento foram abatidos no mesmo dia. Os pesos médios ao abate dos animais de cada tratamento estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Peso ao abate de bovinos Nelore recriados em pasto associado a suplementação mineral, múltipla e energética e terminados em pasto e confinamento convencional.

	FC	FP	EC	EP	DC	DP	SC	SP
Peso inicial recria	259±6	260±6	257±7	248±14	255±17	253±14	243±11	244±11
Peso médio ao abate	536±28	485±20	528±21	500±16	523±12	494±10	513±24	493±20

FC: suplemento múltiplo com farelo de soja e terminação em confinamento; FP: suplemento múltiplo com farelo de soja e terminação em pasto; EC: suplemento energético e terminação em confinamento; EP: suplemento energético e terminação em pasto; DC: suplemento múltiplo com DDG e terminação em confinamento; DP: suplemento múltiplo com DDG e terminação em pasto; SC: sal mineral e terminação em confinamento; SP: sal mineral e terminação em pasto

Os animais foram encaminhados ao frigorífico Minerva Foods em Barretos/SP, localizado a 92 km de Jaboticabal/SP. Em seguida, foram insensibilizados com pistola pneumática de ação penetrante para o abate.

Imediatamente após o abate, antes das carcaças serem resfriadas em câmara fria, uma amostra do músculo *M. longissimus thoracis* (LT) foi retirada e imediatamente conservada em nitrogênio líquido e posteriormente armazenadas em ultrafreezer -80°C.

2.2.2. Extração do RNA total e síntese de DNA complementar

Foi utilizado o *kit* para extração de RNA total *RNeasy Lipid Tissue Mini Kit* (Qiagen, Valencia, CA – EUA), de acordo com as recomendações do fabricante. A concentração, determinação da pureza e contaminações do RNA foi realizada por leitura de absorbância em espectrofotômetro *NanoDrop 1000 Spectrophotometer* (Thermo Fisher Scientific, Santa Clara, CA, EUA, 2007). Para a determinação da

concentração de RNA (ng/ μ L) foi utilizado o comprimento de onda 260 nm.

As razões 260nm/280nm foram determinadas para avaliar a contaminação por proteínas e 260nm/230nm para avaliar contaminações por compostos como sais, polissacarídeos, fenóis, entre outros. Em ambas as razões, amostras com valores superiores a 1,8 foram admitidas como aptas a análise.

A integridade do RNA total foi verificado por aparelho *Agilent 2100 Bioanalyzer* (Agilent, Santa Clara, CA, EUA, 2009), e do kit *Agilent RNA 6000 Nano Chips* (Agilent, Santa Clara, CA, EUA), gerando relatório no programa *2100 Expert Software* (Agilent, Santa Clara, CA, EUA, 2009). Neste programa, a integridade do RNA é avaliada por meio de eletroferograma e é considerado íntegro, quando pode-se observar 2 picos bem definidos, referentes as subunidades do RNA ribossomal (28S e 18S na razão de 2:1). Além disso, foi observado o RIN (RNA integrity number), número este que varia de 1 (maior degradação do RNA) a 10 (RNA de maior qualidade), considerando satisfatório, valores superiores a 7 (Figura suplementar – FS2).

Para determinar a concentração de RNA e confirmar a ausência de contaminação por DNA genômico nas amostras, foi utilizado aparelho Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA, 2010) e o *kit* de quantificação de DNA, Qubit dsDNA Assay Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). Todas as amostras estavam livres de contaminação.

Foi utilizado o *Kit High Capacity cDNA Reverse Transcription Kits for qRT-PCR* (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) para a síntese da primeira fita do DNA complementar (cDNA), de acordo com as recomendações do fabricante.

2.3. Quantificação da expressão gênica

A quantificação da expressão gênica foi realizada por meio de PCR quantitativa em tempo real (qRT - PCR), utilizando o método de quantificação relativa. Para isso, foi realizado o desenho dos *primers*, dos genes alvo e referência, foi realizado utilizando o *software* Oligo Perfect™ Designer, com base nas sequências cadastradas e publicadas no banco de dados público do Genbank, plataforma do NCBI (National Center for Biotechnology Information).

Foram desenhados 10 pares de iniciadores referentes aos *genes* alvo (ACACA,

ACOX, *SREBP-1c*, *PPAR- α* , *SCD1*, *LPL*, *FABP4*, *CPT2*, *FASN*, *PPAR- γ*), além dos genes selecionados na literatura que foram usados como genes de referência (*β -actina* e *GAPDH*), que tiveram sua estabilidade avaliada através dos programas *Genorm* (<http://medgen.ugent.be/~jvdesomp/genorm>) e *Expression Suite Software v1.0* (Applied Biosystems, Foster, CA, USA, 2012). Os iniciadores foram selecionados de acordo com o tamanho de *amplicon*, temperatura de anelamento (TA), ausência de dímeros e porcentagem de citosina e guanina (Tabela 2).

Tabela 2. Sequência dos oligonucleotídeos iniciadores diretos (F) e reversos (R) utilizados na qRT – PCR.

Gene	Sequência <i>Primer</i> (5'-3')	TM°C ¹	%GC ²
<i>Genes alvos</i>			
<i>PPAR-α</i>	F: CAATGGAGATGGTGGACACA	81,6	50,0
	R: TTGTAGGAAGTCTGCCGAGAG		52,3
<i>PPAR-γ</i>	F: CGATATCGACCAACTGAACC	81,0	50,0
	R: AACGGTGATTTGTCTGTCGT		45,0
<i>SREBP-1c</i>	F: GAGCCACCCTTCAACGAA	85,4	55,5
	R: TGTCTTCTATGTTCGGTCAGCA		47,6
<i>FABP4</i>	F: GGATGATAAGATGGTGCTGGA	75,5	47,6
	R: ATCCCTTGGCTTATGCTCTCT		47,6
<i>SCD1</i>	F: TTATTCCGTTATGCCCTTGG	78,7	45,0
	R: TTGTCATAAGGGCGGTATCC		50,0
<i>ACACA</i>	F: TGAAGAAGCAATGGATGAACC	77,3	42,8
	R: TTCAGACACGGAGCCAATAA		45,0
<i>ACOX</i>	F: GCTGTCCTAAGGCGTTTGTG	75,2	55,0
	R: ATGATGCTCCCCTGAAGAAA		45,0
<i>CPT2</i>	F: CATGACTGTCTCTGCCATCC	78,7	55,0
	R: ATCACTTTTGGCAGGGTTCA		45,0
<i>FASN</i>	F: ATCAACTCTGAGGGGCTGAA	76,0	50,0
	R: CAACAAAACCTGGTGCTCACG		50,0
<i>LPL</i>	F: CTCAGGACTCCCGAAGACAC	79,1	60,0
	R: GTTTTGCTGCTGTGGTTGAA		45,0
<i>Genes referência</i>			
<i>β-actina</i>	F: GTCCACCTTCCAGCAGATGT	80,0	55,0
	R: CAGTCCGCCTAGAAGCATTT		50,0
<i>GAPDH</i>	F: CGACTTCAACAGCGACACTC	79,4	55,0
	R: TTGTCGTACCAGGAAATGAGC		47,6

¹ TM: Temperatura de Melting

² %CG: porcentagem de citosina e guanina

Foi realizada a diluição dos iniciadores diretos (F) e reversos (R) nas

concentrações 100/100; 300/300 e 600/600 nanomolar (nM), afim de padronizar a concentração utilizada nas reações, evitando dessa forma a formação de dímeros e *hairpins*, e garantindo maior confiabilidade no uso fluoróforo SYBR® *Green Master Mix* (Applied Biosystems, Foster, CA, USA). Para cada par de iniciadores, usou-se 50ng de *pool* de amostras de cDNA. As reações foram realizadas em triplicata, com controle negativos e positivo, em placas de 96 poços seladas com filme adesivo óptico (Life Technologies, Foster, CA, USA). Após padronização, foram escolhidas as melhores concentrações para cada oligonucleotídeos (Tabela 3).

Tabela 3. Diluição dos indicadores para padronização da titulação

	100/100	300/300	600/600
<i>PPAR-α</i>		X	
<i>PPAR-γ</i>	X		
<i>SREBP-1c</i>	X		
<i>FABP4</i>		X	
<i>SCD1</i>	X		
<i>ACACA</i>	X		
<i>ACOX</i>		X	
<i>CPT2</i>		X	
<i>FASN</i>	X		
<i>LPL</i>		X	
<i>Genes referência</i>			
<i>β-actina</i>			X
<i>GAPDH</i>	X		

O equipamento utilizado para as reações de qRT - PCR foi o *7500 Real-Time PCR* (Applied Biosystems, Foster, CA, USA, 2009). O volume final das reações foi de 12,5 µL contendo: SYBR Green, cDNA, iniciadores variando as concentrações, de acordo com a tabela 3, e água ultrapura. Os dados gerados foram analisados com o programa 7500 software v 2.0.6 (Applied Biosystems, Foster, CA, USA, 2011).

Foi realizada a construção da curva padrão com 7 pontos de diluição seriada (2:1), a fim de escolher a melhor concentração de amostras de cDNA, além de calcular o coeficiente angular da curva padrão (Figura suplementar – FS4 e FS5), que determina a eficiência da reação, a partir da equação:

$$E = (10^{-1/\text{ângulo}} - 1) \times 100$$

Foram consideradas eficientes as reações em que a eficiência de amplificação

do gene alvo e do gene referência foram próximas, com tolerância de 10% de variação (Livak e Schmittgen, 2001) e coeficiente de correlação (r^2) > 0,99. Foi determinada a melhor concentração das amostras de cDNA (50 ng) para a análise de expressão gênica pelo método de quantificação relativa ($\Delta\Delta$ Ct).

Foram utilizadas placas de 96 poços para as reações de amplificação dos genes alvos e referência. Todas as reações foram feitas em triplicata e obtiam, para cada gene, controle negativo e positivo, garantindo os resultados por se tratar de amostras previamente testadas na titulação dos *primers*.

2.4. Análises estatística

Para a avaliação da expressão gênica, os dados foram analisados com o programa *Statistical Analysis System* (SAS Institute, Cary, NC, USA, 2002). Para os genes de referência (ACTB e GAPDH), foi feita a média geométrica dos Cts (threshold cycle), de acordo com o proposto por Vandesompele et al. (2002). Além disso, foi realizada a correção das eficiências de amplificação calculadas que diferiram de 100%

Como proposto por Steibel et al. (2009), um modelo linear misto foi utilizado para a análise de expressão dos genes alvos e médias geométricas dos genes referências. Gerando a equação:

$$Y_{gikr} = T_{ig} + G_k + D_{ik} + e_{gikr}, \text{ onde:}$$

Y_{gikr} = Ct obtido pelo “software” do termociclador para as médias dos genes alvos e médias geométricas dos genes referência, poços da placa, animal e tratamento analisado; T_{ig} = é o efeito do tratamento i na expressão do gene g ; G_k = é o efeito de grupos de abate; D_{ik} = é um efeito específico de amostragem aleatória que capta as diferenças entre as amostras que são comuns a ambos os genes, particularmente os que afetam a concentração de RNA, tal como extração diferencial ou eficiências de amplificação entre as amostras e e_{gikr} = refere-se ao resíduo.

Depois de corrigidos os Cts pela equação, foram calculados os “Fold Change” (FG) segundo metodologia proposta por Livak e Schmittgen (2001). Os tratamentos foram todos comparados ao tratamento controle sal pasto (SP).

3. RESULTADOS

Todos os genes alvos foram expressos quanto ao tratamento alimentar. A tabela 5 apresenta os resultados dos genes alvos *PPAR α*, *PPAR γ*, *SREBP-1c*, *FABP4*, *SDC1*, *ACACA*, *ACOX*, *CPT2*, *FASN* e *LPL*.

Tabela 5. Fold change (FC) médio dos genes alvos *ACACA*, *ACOX*, *FASN*, *PPAR α*, *PPAR γ*, *SDC1*, *CPT2*, *SRBP*, *FABP4* e *LPL*.

	FC	FP	EC	EP	DC	DP	SC	SP	EPM
<i>Fator de transcrição</i>									
<i>PPAR α</i>	1,58*	0,64*	1,45	0,92	1,26	0,91	1,48	1,0	0,255 ± 0,025
<i>PPAR γ</i>	0,88	1,16	1,28	0,99	1,18	1,06	0,76	1,0	0,231 ± 0,022
<i>SREBP-1c</i>	2,96**	0,73	1,84**	0,66	2,10**	0,46**	2,39**	1,0	0,285 ± 0,027
<i>Proteína de ligação</i>									
<i>FABP4</i>	2,21**	0,25**	2,44**	1,08	2,61**	0,49*	1,35	1,0	0,881 ± 0,080
<i>SDC1</i>	1,54	1,61*	1,22	1,53	0,83	1,46	1,00	1,0	0,288 ± 0,001
<i>Enzima</i>									
<i>ACACA</i>	1,40*	1,16	1,44*	1,10	1,45*	1,39	1,44*	1,0	0,204 ± 0,0005
<i>ACOX</i>	1,39	1,22	1,19	1,14	1,13	1,10	1,01	1,0	0,231 ± 0,001
<i>CPT2</i>	1,32	2,89**	1,03	1,96**	1,18	1,54	1,87*	1,0	0,332 ± 0,033
<i>FASN</i>	1,31	1,14	1,40*	1,10	1,32	0,95	0,79	1,0	0,199 ± 0,001
<i>LPL</i>	1,65*	1,61*	1,48	2,66**	0,85	2,08**	0,73	1,0	0,411 ± 0,001

FC: suplemento múltiplo com farelo de soja e terminação em confinamento; FP: suplemento múltiplo com farelo de soja e terminação em pasto; EC: suplemento energético e terminação em confinamento; EP: suplemento energético e terminação em pasto; DC: suplemento múltiplo com DDG e terminação em confinamento; DP: suplemento múltiplo com DDG e terminação em pasto; SC: sal mineral e terminação em confinamento; SP: sal mineral e terminação em pasto; FC: fold change; ** diferença significativa ($p < 0,05$); * diferença significativa ($p < 0,1$).

Não houve diferença significativa entre a expressão dos genes *PPAR α*, *PPAR γ*, *SDC1*, *ACACA*, *ACOX* e *FASN*, apresentados na tabela, ou seja, os tratamentos nutricionais da recria e terminação não causaram influência na expressão desses genes quando comparados ao controle (SP). Todos os tratamentos de recria que os animais foram terminados no confinamento convencional apresentaram diferença significativa a $p < 0,1$ quanto a expressão do gene *ACACA*. Os animais do tratamento EC, apresentaram diferença a $p < 0,1$ na expressão do gene *FASN* ($p = 0,0922$), bem como os animais do tratamento FP, que mostrou diferença na expressão do gene *SDC1* ($p = 0,0938$).

Quanto a expressão do gene *PPARα*, este apresentou diferença significativa a $p < 0,1$ nos tratamentos em que os animais foram recriados com suplemento múltiplo com farelo de soja (FC e FP com $p = 0,0740$ e $p = 0,0844$, respectivamente). Na figura 1, estão os genes que o tratamento nutricional modulou a expressão do gene em

relação ao tratamento controle, são eles: *SREBP-1c*, *FABP4*, *CPT2* e *LPL*.

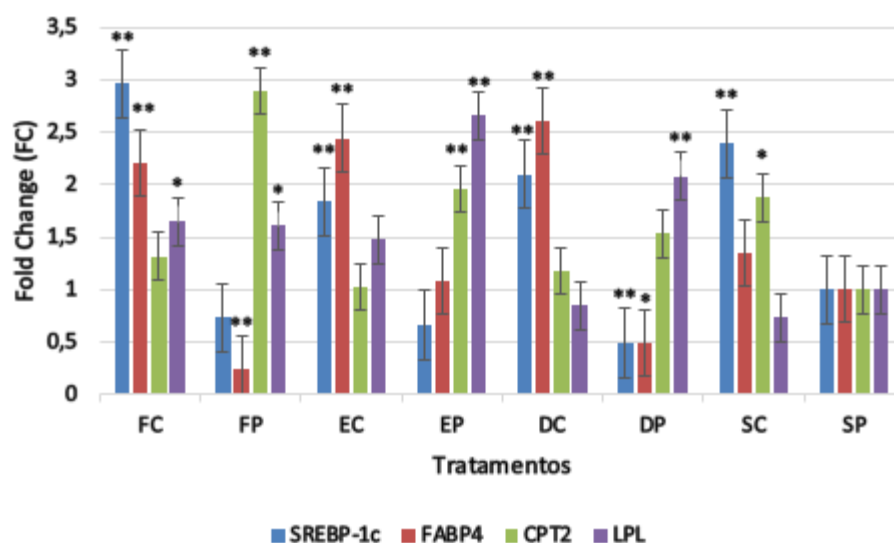


Figura 1. Fold change da expressão dos genes *SREBP-1c*, *FABP4*, *CPT2* e *LPL*, quanto ao tratamento nutricional ofertado ao animal.

Na figura estão representados os “fold change” de cada tratamento. O gene *SREBP-1c* diferiu quanto aos tratamentos FC, EC, DC, DP e SC. O gene foi mais expresso nos animais do tratamento FC em comparação ao tratamento controle.

O gene *FABP4*, apresentou diferença significativa nos tratamentos FC, FP, DC e EC. Os animais alimentados na recria com suplemento com DDG como fonte proteica tiveram a maior expressão desse gene, seguido pelos animais que na recria foram suplementados com suplemento energético e múltiplo com farelo de soja e ambos terminados em confinamento convencional. Os animais recriados com suplemento múltiplo com farelo de soja e terminados em pasto, tiveram o gene *FABP4* menos expresso que o tratamento controle.

O gene *CPT2* apresentou “fold change” de 2,89, ou seja, sua expressão foi maior que dos animais do tratamento controle ($p=0,0026$), seguido pelo tratamento EP, de “fold change” de 1,96, mais expresso que o tratamento controle ($p=0,0403$). O Ct desses tratamentos foram de 28,01 e 28,57 respectivamente, representando o início da expressão do gene antes dos demais tratamentos.

O tratamento EP apresentou maior expressão do gene *LPL*, seguido do tratamento DP. Os animais desses tratamentos apresentaram maior expressão de *LPL* que os animais do tratamento controle SP, apresentando Ct de 25,40 e 25,75, respectivamente.

4. DISCUSSÃO

A interação entre nutrientes que compõem a dieta com a síntese e ativação de enzimas lipogênicas ligadas a deposição de gordura se dá pela ativação ou inibição de genes que codificam enzimas a partir de ácidos graxos dietéticos específicos (Jump et al, 2002). O *SDC2* (esteril CoA desnaturase) está associado ao perfil de ácidos graxos da carne e tecido adiposo (Martins et al., 2018). A composição dos ácidos reflete a ativação e expressão do *SDC* por ação anterior dos ácidos graxos palmitico e esteárico (Kim, 1999) formando o ácido oléico pela inserção de duplas ligações à cadeia (Ladeira et al., 2016), presente na carne dos animais em estudo.

Bionaz et al. (2012) mostraram que os *PPAR* (receptores ativados por proliferadores de peroxissomas) têm diferentes sítios de expressão no organismo do animal. Segundo os autores, em análise de qRT - PCR de bovinos de corte, a expressão desses genes é alta em tecido adiposo (principalmente o *PPAR* γ) porém sua expressão é de moderada a baixa no músculo longíssimus, esclarecendo o resultado no presente trabalho.

O *PPAR* tem correlações com a expressão de varios genes, como por exemplo o gene *ACOX* (acil CoA oxidase) e o gene *FABP4* (proteína de ligação a ácidos graxos) (Muhlhausler et al, 2009), sugerindo uma dependencia da expressão do *FABP4* ao *PPAR*. Este gene se localiza no tecido adiposo branco e esquelético (Kitessa e Abeywardena, 2016). Os *PPARs*, são regulados por ácidos graxos específicos, no presente estudo, como não houve diferença no perfil de ácidos graxos da dieta, não houve diferença na expressão dos *PPAR* α e γ .

O *SREBP-1c*, fator de transcrição e regulador da síntese de lipídeos nas células (Matsuda et al., 2001) teve sua expressão maior em animais terminados em confinamento convencional, o que condiz com sua importância na regulação da lipogênese (Waters et al ., 2009), um vez que os animais de confinamento apresentaram maior quantidade de gordura intramuscular que os animais terminados em pasto (capítulo 4).

Os nutrientes presentes nos alimentos vão dar sinal aos receptores presentes nas células para ativar os genes relacionados ao processo de adipogênese (Johan e Moisa, 2019). Isso ocorre quando há a suplementação de ácidos graxos na dieta ou

com ingredientes, como por exemplo o amido presente no milho que, no rúmen, será formado propionato que dará o sinal aos receptores (Ladeira et al., 2016). Em dietas em que a fonte de volumoso é a forragem fresca, animais terminados em pasto, a proporção de acetato aumenta no rúmen reduzindo a expressão do *SREBP-1c*. Outra possível explicação é o pH ruminal, que pode ter alterado a biohidrogenação dos AGI, que diminui a expressão desse gene (Brandebourg e Hu, 2005). Nesse caso, há uma maior concentração de ácidos poli-insaturados que regulam os genes relacionados a síntese e transporte de ácidos graxos como o *LPL*, maior em animais terminados em pasto.

Estudos indicam uma dependência entre a expressão do gene *LPL* com o *FABP4* (Teixeira, 2015; Zhang et al., 2015; Oliveira et al., 2014), quando a expressão de um gene aumenta, o outro apresenta mesmo comportamento (Ladeira et al., 2016). A *FABP4* liga-se com ácidos graxos de cadeia longa e genes de polimorfismo que estão sendo associados a qualidade da carne (Goszczynski et al. 2017). As dietas de confinamento aumentaram a expressão do *FABP4* enquanto o *LPL* foi mais expresso em animais terminados em pasto. Está bem consolidado que dietas de confinamento convencional produzem carnes com maior quantidade de gordura. A silagem utilizada no confinamento convencional produz menores quantidades de ácidos graxos poli-insaturados quanto dietas que utilizam forragem fresca (da Costa, et al. 2013), esta variação é atribuída a expressão do *FABP4* e *LPL*, este último, mais expresso em animais suplementados na recria com milho e terminados em pasto.

Genes lipogênicos como *ACACA* e *FASN* e o *LPL*, responsável por transporte de lipídios, são positivamente correlacionados com a gordura intramuscular (Jeong et al., 2012). Segundo Teixeira et al. (2017), animais alimentados com milho moído tiveram maior expressão dos genes relacionados a absorção de ácidos graxos (*FABP4* e *LPL*). No presente experimento, os animais que receberam suplemento energético a base de milho e foram terminados em pasto, recebendo alto nível de concentrado, tiveram maior expressão do gene *LPL*. Todos os suplementos com concentrado na recria tinham milho em sua composição, a diferença encontrada pode ser atribuída a maior proporção de milho no suplemento energético, ou seja, maior densidade energética oferecida aos animais na recria. Segundo Zhang et al. (2015) a expressão desse gene está ligada a energia da dieta. Os autores afirmam que o

aumento da densidade energética da dieta pode melhorar a digestão e absorção de nutrientes que estimulam a expressão de genes ligados ao transporte de ácidos graxos.

A nutrição em pasto promoveu a expressão do gene *CPT*. Na lipólise, os ácidos graxos são oxidados na mitocôndria pelo palmitoil carnitina transferase (*CPT*) (Bionaz et al., 2012). Os animais terminados em pasto, que receberam durante a recria suplemento energético e múltiplo com farelo de soja apresentaram maior expressão desse gene.

5. CONCLUSÃO

O uso da suplementação energética durante a fase de recria de tourinhos Nelore aumenta a expressão dos genes relacionados ao transporte de ácidos graxos e, a terminação em confinamento convencional aumenta a expressão do fator de transcrição *SREBP-1c*, que regula a síntese de lipídeos, estimulando o depósito de gordura nos animais.

6. LITERATURA CITADA

Bionaz M, Thering BJ, Loores 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 alpha activation. **The British Journal of Nutrition**, vol. 107, pp. 179–191.

Bligh EG, Dyer WJ (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry Physiology**, v.37, p.011-917.

da Costa AS, Pires VM, Fontes CM, Mestre Prates JA. (2013) Expression of genes controlling fat deposition in two genetically diverse beef cattle breeds fed high or low silage diets. **BMC Veterinary Research**. 9:118. DOI: 10.1186/1746-6148-9-118.

Corazzin M, Bovolenta S, Sacca E, Bianchi G, Piasentier E. (2013). Effect of linseed addition on the expression of some lipid metabolism genes in the adipose tissue of young Italian Simmental and Holstein bulls. **J Anim Sci**. 91(1):405–412. pmid:23048135

Dervishi E, Serrano C, Joy M, Serrano M, Rodellar C, Calvo J. (2011). The effect of feeding system in the expression of genes related with fat metabolism in semitendinous muscle in sheep. **Meat Science** 89: 91–97.

Eastwood MA. (2001) A molecular biological basis for the nutritional and pharmacological benefits of dietary plants. **Q JM**. 94(1):45-48.

Feige JN, Gelman L, Michalik L, Desvergne B, Wahli W. (2006). From molecular action to physiological outputs: peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. **Prog Lipid Res**. 2006;45(2):120–159. pmid:16476485

Goszczynski DE, PapaleoMazzucco J, Ripoli MV, Villarreal EL, Rogberg-Munoz A, Mezzadra CA, et al., (2017) Genetic variation in FABP4 and evaluation of its effects on beef cattle fat content. **Animal Biotechnology**. 28(3):211-219. DOI: 10.1080/10495398.2016.126286.

Graugnard DE, Piantoni P, Bionaz M, Berger LL, Faulkner DB, Looor JJ. (2009) Adipogenic and energy metabolism gene networks in longissimus lumborum during rapid post-weaning growth in Angus and Angus × Simmental cattle fed high-starch or low-starch diets. **BMC Genomics**. 10(1):142

Hartman L, Lago RCA, (1986) Rapid preparation of fatty acids methyl esters. **Laboratory Practices**, v. 22, n. 6, p. 475-476.

Jacobs MN, Lewis DF. (2002) Steroid hormone receptors and dietary ligands: A selected review. **The Proceedings of the Nutrition Society**. 61(1):105-122).

Jeong J, Kwon EG, Im SK, Seo KS, Baik M, (2012) .Expression of fat deposition and fat removal genes is associated with intramuscular fat content in longissimus dorsi muscle of Korean cattle steers. **Journal of Animal Science** 90, 2044–2053.

Jump DB. (2002) Dietary polyunsaturated fatty acids and regulation of gene transcription. **Current Opinion in Lipidology**. 13(2):155-165.

Kim YC, Ntambi JM. (1999) Regulation of stearoyl-CoA desaturase genes: Role in cellular metabolism and preadipocyte differentiation. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 266(1):1-4. DOI:10.1006/bbrc. 1999.1704.

Kitessa SM, Abeywardena MY, (2016). Lipid-induced insulin resistance in skeletal muscle: The chase for the culprit goes from total intramuscular fat to lipid intermediates, and finally to species of lipid intermediates. **Nutrients** 8, 466.

Ladeira MM, Schoonmaker JP, Gionbelli MP, Dias J, Gionbelli TRS, Carvalho JRR e Teixeira PD (2016). Nutrigenomics and beef quality: a review about lipogenesis. **International Journal of Molecular Sciences** 17, 918.

Livak KJ, Schmittgen TD. (2001) Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. **Methods**, v.25, p.402-408.

Maharani D, Jung Y, Jung WY, et al. (2012) Association of five candidate genes with fatty acid composition in Korean cattle. **Mol Biol Rep** 39(5):6113–6121. doi:10.1007/s11033-011-1426-6.

Martins T da S, de Lemos, MVA, Mueller LF, Baldi F, de Amorim TR, Ferrinho AM, Muñoz JA, Fuzikawa IH de S, de Moura GV, Gemelli JL, Pereira ASC, (2018). Fat Deposition, Fatty Acid Composition, and Its Relationship with Meat Quality and Human Health. In **Meat Science and Nutrition**. IntechOpen.

Matsuda M, Korn BS, Hammer RE, Moon YA, Komuro R, Horton JD, Goldstein JL, Brown MS, Shimomura I, (2001). SREBP-1C cleavage-activating protein (SCAP) is required for increased lipid synthesis in liver induced by cholesterol deprivation and insulin elevation. **Genes & Development** 15, 1206–1216.

Muhlhausler BS, Morrison JL e McMillen IC (2009) “Rosiglitazone increases the expression of peroxisome proliferatoractivated receptor- γ target genes in adipose tissue, liver, and skeletal muscle in the sheep fetus in late gestation” **Endocrinology**, vol.150, no.9, pp.4287–4294.

Nakamura MT, Yudell BE, Loo JJ. (2014). Regulation of energy metabolism by long-chain fatty acids. **Prog Lipid Res.** 53:124–144. pmid:24362249

Neeha VS, Kirth P. (2013) Nutrigenomics research: A review. **Journal of Food Science and Technology.** 50(3):415-428. DOI: 10.1007/s13197-012-0775-z

Nobel S, Abrahmsen L, Oppermann U. (2001) Metabolic conversion as a prereceptor control mechanism for lipophilic hormones. **European Journal of Biochemistry.** 268(15):4113-4125. DOI: 10.1046/j.1432-1327.

Oliveira DM, Chalfun-Junior A, Chizzotti ML, Barreto HG, Coelho TC, Paiva LV, Coelho CP, Teixeira PD, Schoonmaker JP, 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.**, 92, 5426–5436.

Osorio JS, Moisa SJ, (2019). Gene Regulation in Ruminants: A Nutritional Perspective. In **Gene Expression and Control**. IntechOpen. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.82193>.

Shimano H. (2001) Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): transcriptional regulators of lipid synthetic genes. **Prog Lipid Res.** 40(6):439–452. pmid:11591434.

Shin SC, Heo JP, Chung ER. (2012) Genetic variants of the FABP4 gene are associated with marbling scores and meat quality grades in Hanwoo (Korean cattle). **Mol Biol Rep.** 39(5):5323–5330. doi:10.1007/s11033-011-1331-z.

Steibel JP, Poletto R, Coussens PM, Rosa JMG, (2009) A powerful and flexible linear mixed model framework for the analysis of relative quantification RT-PCR data. **Genomics**, n.94, p. 146–152.

Teixeira PD, Oliveira DM, Chizzotti ML, Chalfun-Junior A, Coelho TC, Gionbelli M, Paiva LV, Carvalho JRR, 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. DOI: 10.1016/j.meatsci.2017.06.009.

Teixeira PD. (2015) **A Subespécie e a Dieta Afetam a Expressão de Genes Envolvidos no Metabolismo Lipídico e a Composição Química do Musculo de Bovino de Corte** (the Subspecies and Diet Affetcs the Expression of Genes Involved in Lipid Metabolism and the Chemical Composition of Skeletal Muscle in Beef Cattle). Federal University of Lavras: Lavras, Brazil, Disponível: <http://repositorio.ufla.br/handle/1/5566> (Acesso: 29 agosto 2019).

Vandesompele J, De Preter K, Pattyn F, Poppe B, Van Roy N, De Paepe A, Speleman F, (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. **Genome Biology**.

Waters SM, Kelly JP, O'Boyle P, Moloney AP, 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 cattle. **Journal of Animal Science** 87, 244–252.

Woollett LA, Spady DK, Dietschy JM. (1992) Saturated and unsaturated fatty-acids independently regulate lowdensity-lipoprotein receptor activity and production-rate. **J Lipid Res**. 33(1):77–88.

Zhang HB, Zhang XF, Wang ZS, Dong XW, Tan C, Zou HW, Peng QH, Xue B, Wang LZ, Dong GZ. (2015) Effects of dietary energy level on lipid metabolism-related gene expression in subcutaneous adipose tissue of yellow breed x simmental cattle. **Anim. Sci. J.**, 86, 392–400.

7. ANEXOS

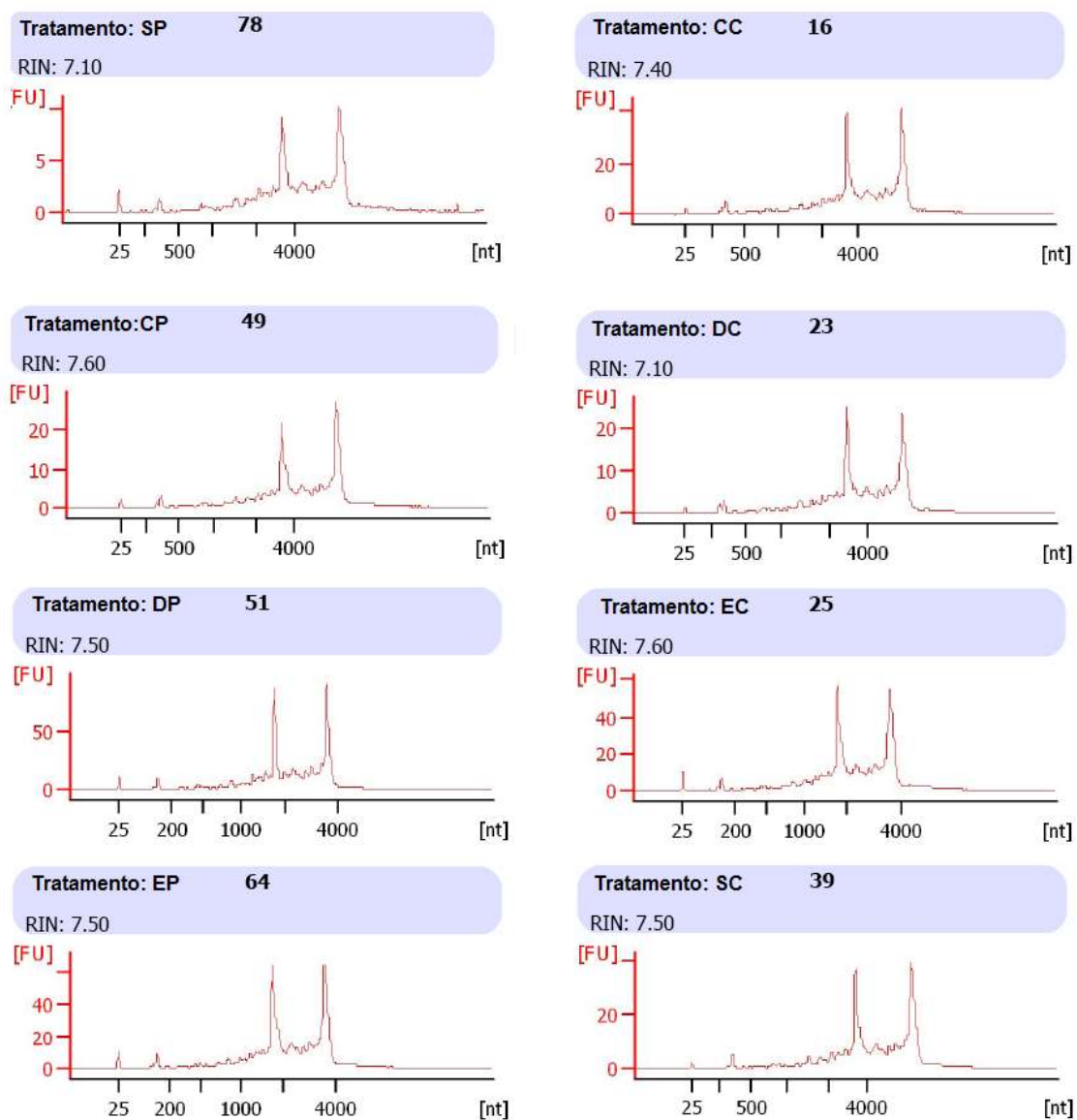


Figura suplementar 2 - Eletroferograma e RIN de RNA total extraídas do tecido muscular de bovinos de corte de amostras que representaram a média de cada tratamento.

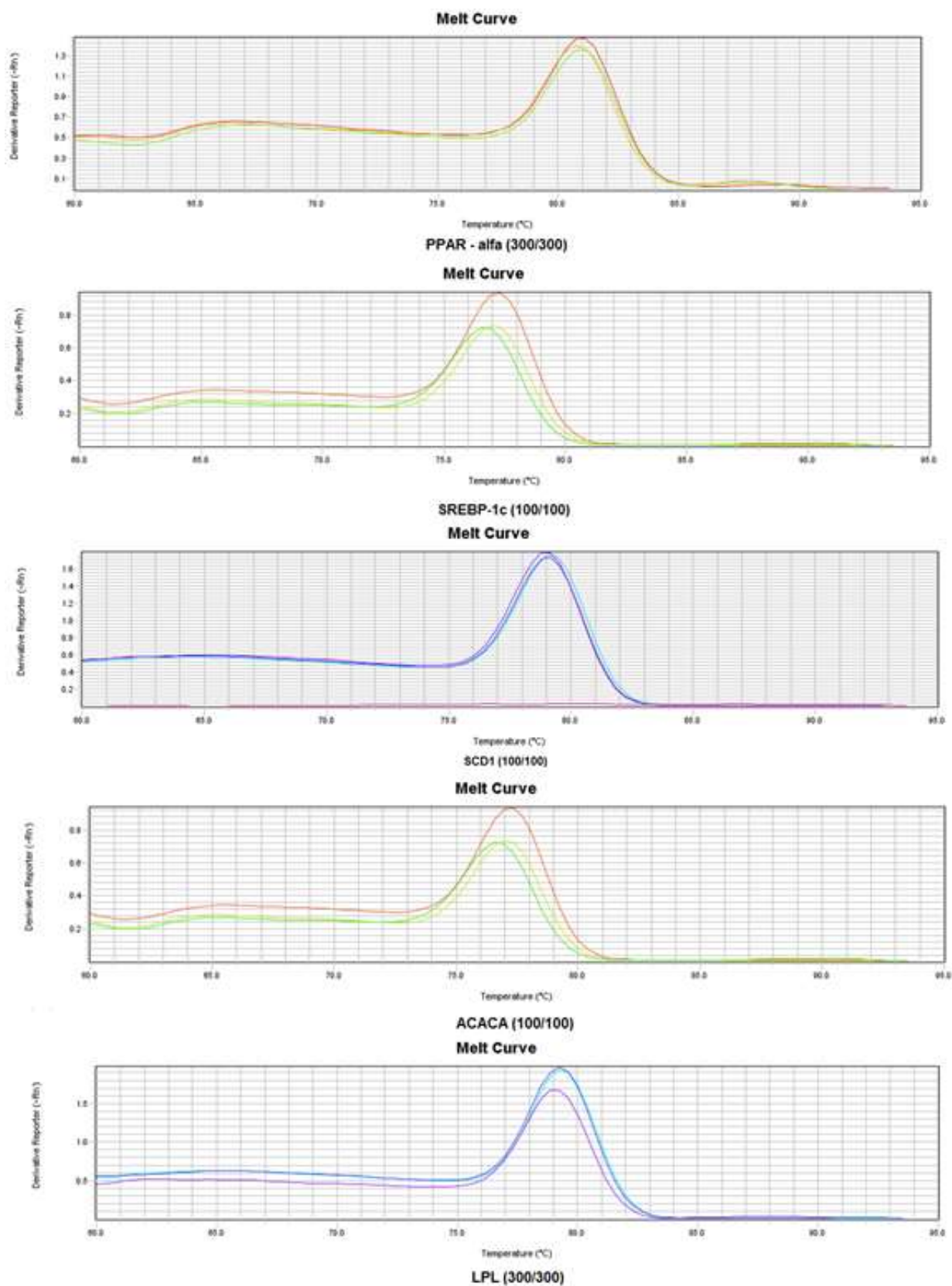


Figura suplementar 3 - Curva de desnaturação, em triplicata, para os genes alvo. Entre parênteses, estão as concentrações escolhidas para os iniciadores diretos e reversos (F/R).

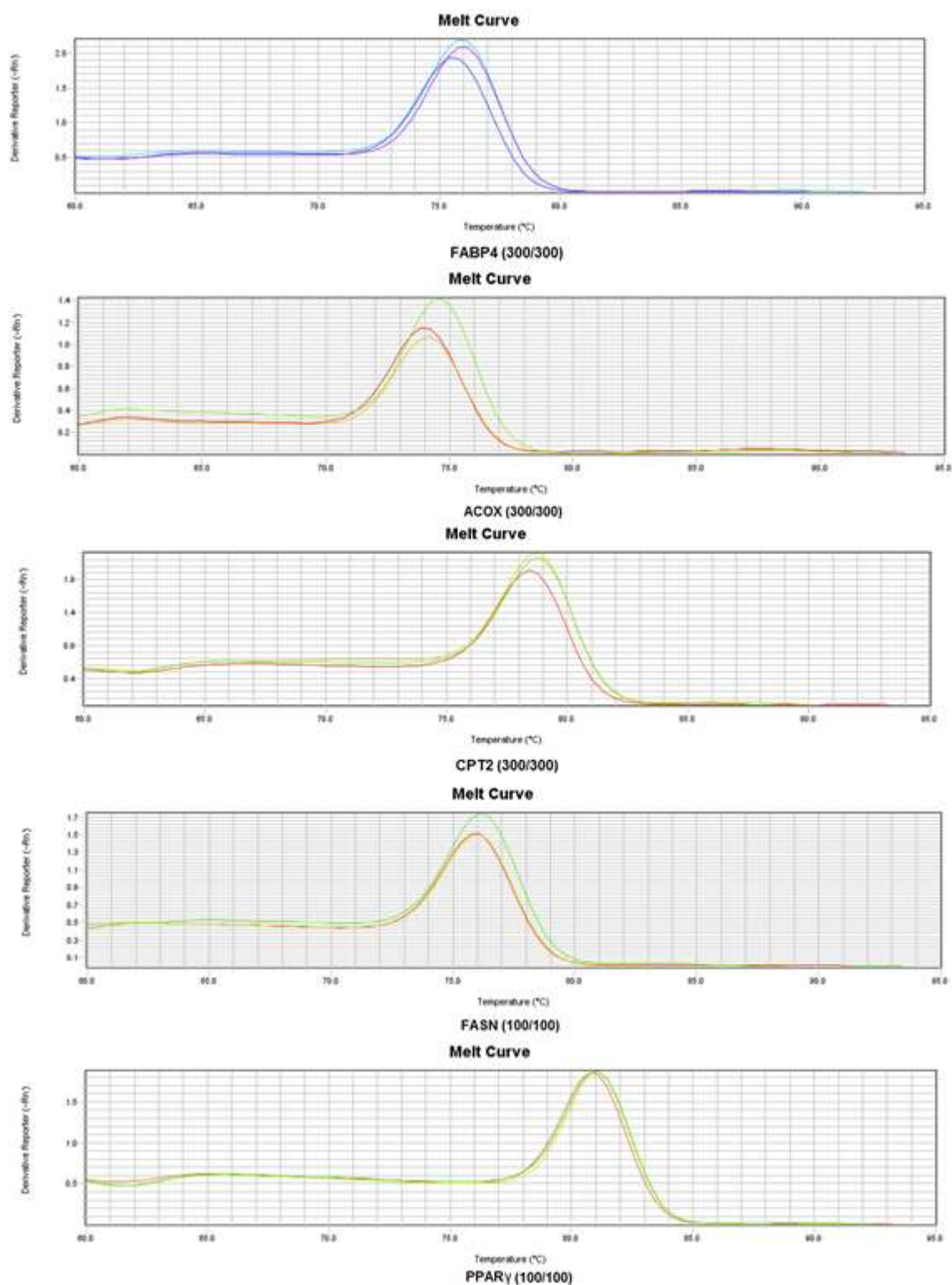


Figura suplementar 3.1. - Curva de desnaturação, em triplicata, para os genes alvo. Entre parênteses, estão as concentrações escolhidas para os iniciadores diretos e reversos (F/R).

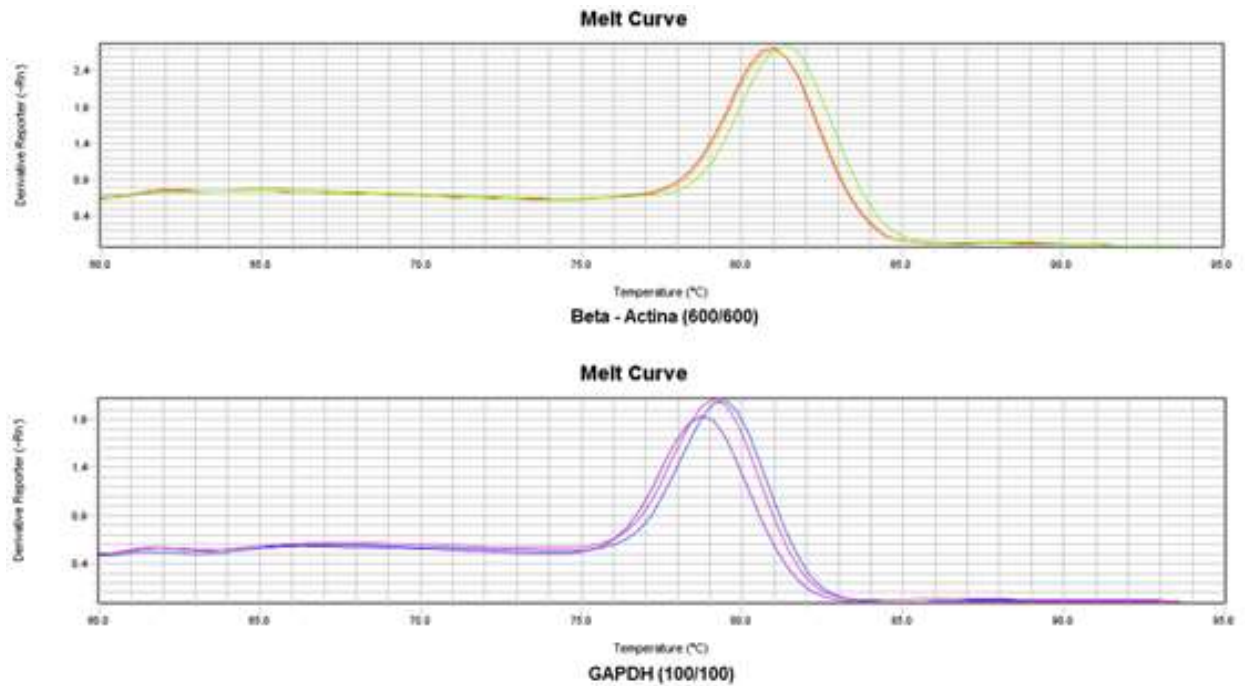


Figura suplementar 3.2. - Curva de desnaturação, em triplicata, para os genes referência β - actina e *GAPDH*. Entre parênteses, estão as concentrações escolhidas para os iniciadores diretos e reversos (F/R).

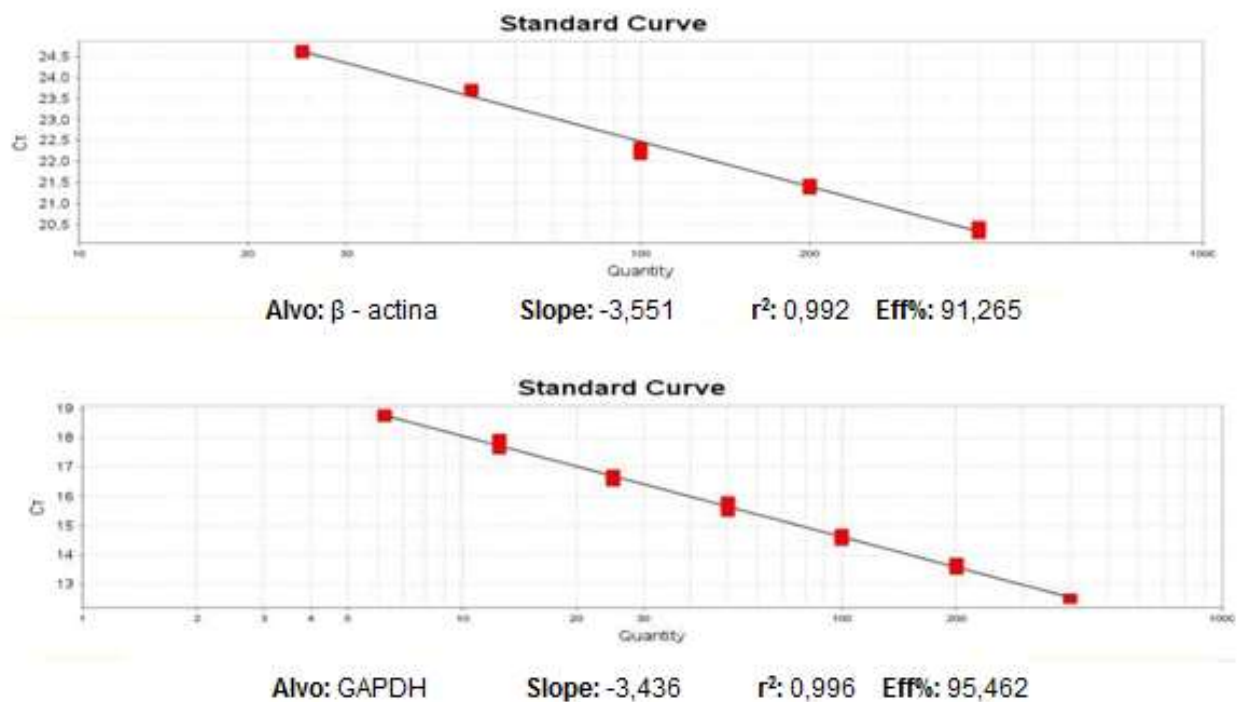


Figura suplementar 4 - Curva Padrão, inclinação da reta (slope), coeficiente r^2 , e eficiência de amplificação (eff%) gerados para o genes de referência β -actina e *GAPDH* em tecido muscular.

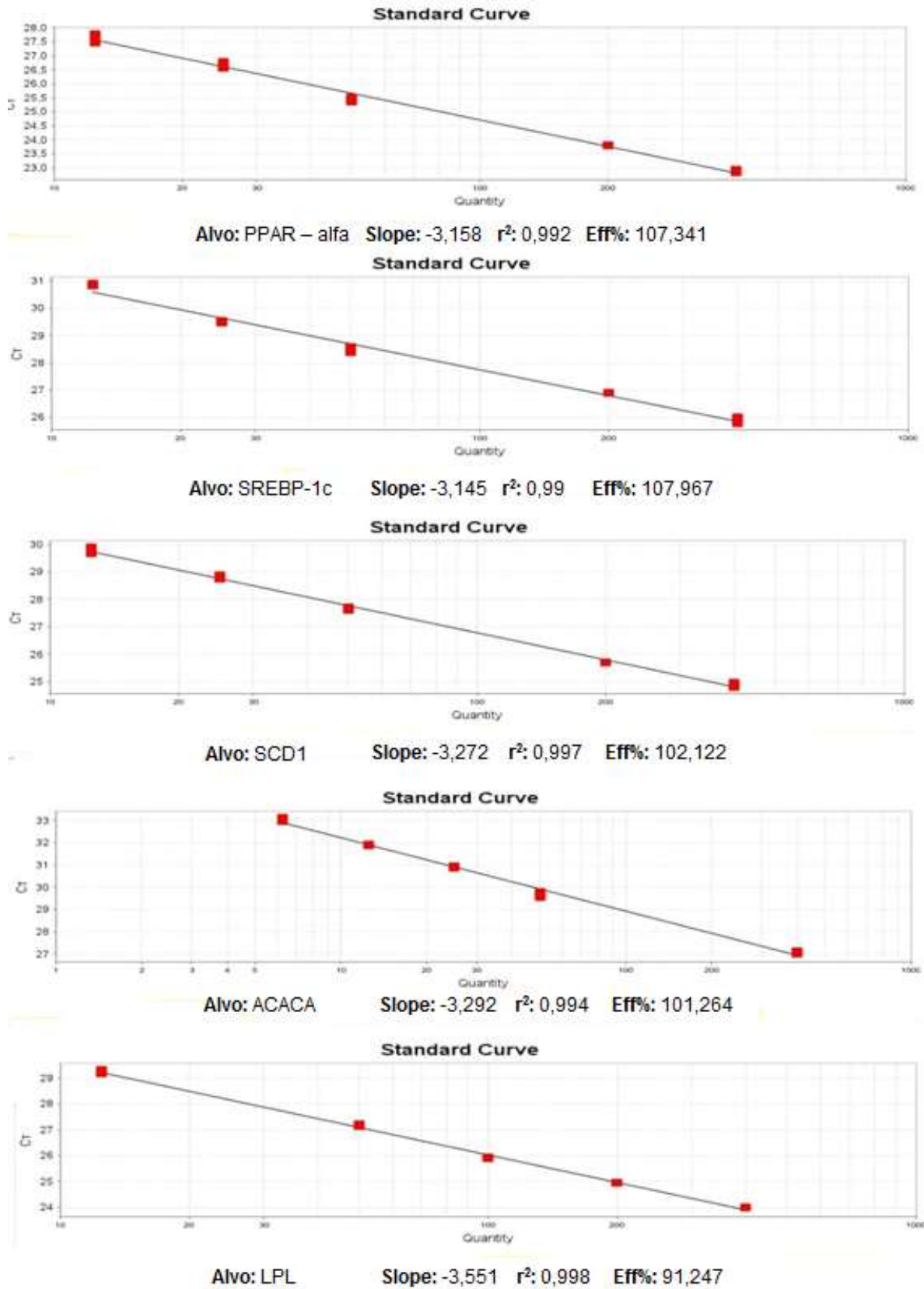


Figura suplementar 5 - Curva Padrão, inclinação da reta (slope), coeficiente r^2 , e eficiência de amplificação (eff%) gerados para o genes alvo *PPAR α* , *SREBP-1c*, *SCD1*, *ACACA* e *LPL* em tecido muscular.

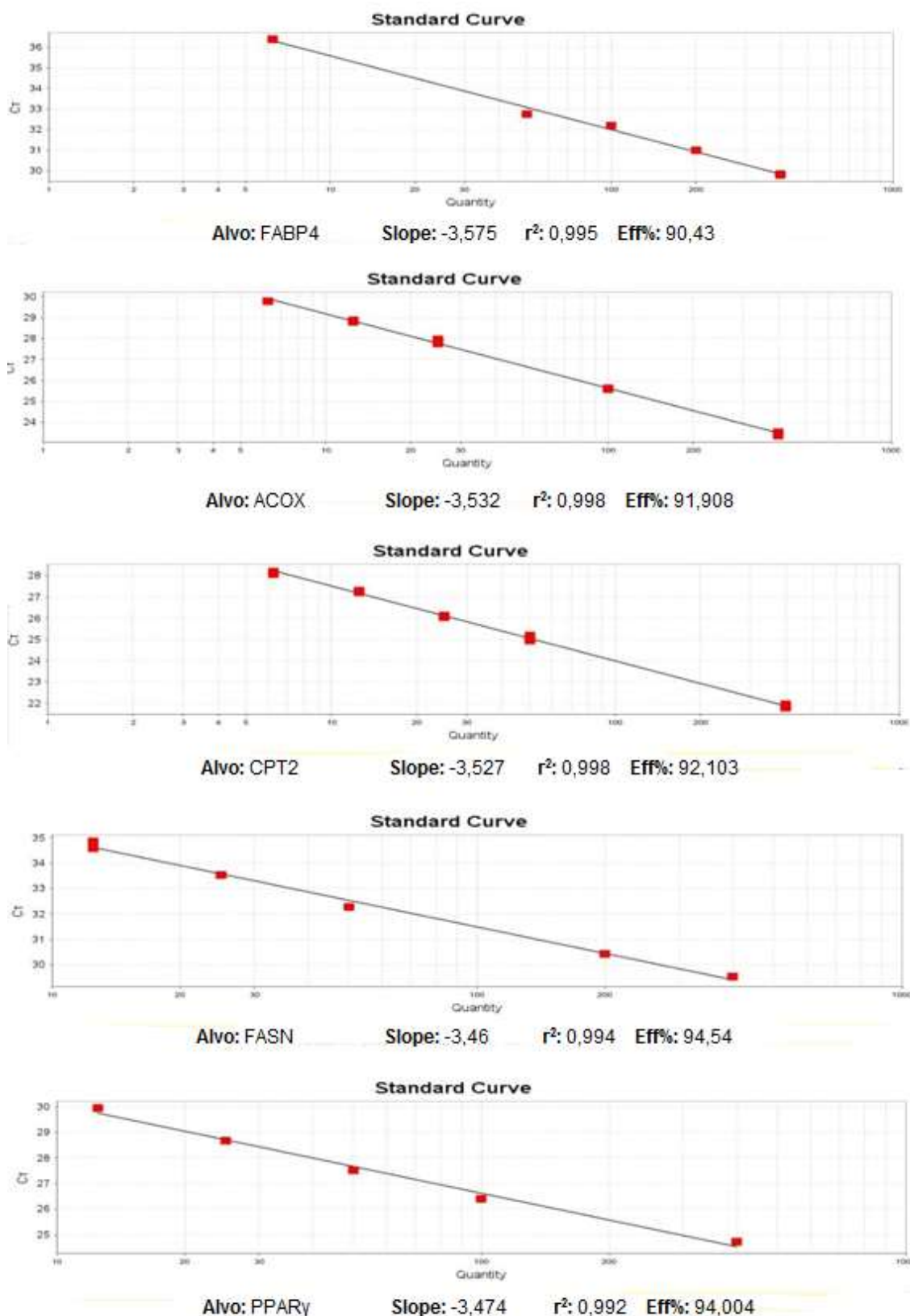


Figura suplementar 6. Curva Padrão, inclinação da reta (slope), coeficiente r^2 , e eficiência de amplificação (eff%) gerados para o genes alvo *FABP4*, *ACOX*, *CPT2*, *FASN* e *PPAR γ* em tecido muscular.

CAPÍTULO 5 – QUALIDADE DA CARNE DE TOURINHOS NELORE SUPLEMENTADOS COM DIFERENTES APORTES NA RECRIA E TERMINADOS EM PASTO OU CONFINAMENTO CONVENCIONAL

RESUMO - O objetivo do trabalho foi avaliar o impacto do uso de suplementos de diferentes aportes nutricionais na recria e o sistema de terminação, em pasto ou confinamento, sobre a qualidade da carne. Durante a fase de recria, os animais foram mantidos em pasto e submetidos a quatro tratamentos: MM) mistura mineral; FS) suplemento múltiplo com milho e farelo de soja; SE) suplemento energético e SD) suplemento múltiplo com milho e DDG. Os animais foram terminados em dois sistemas: em pasto e confinamento convencional. Os animais terminados em pasto foram abatidos com peso médio de 492 kg e os terminados em confinamento convencional com peso médio de 524 kg. Os animais foram abatidos em frigorífico comercial e foram coletadas amostras do músculo *M. longissimus thoracis* para as avaliações de pH, cor da carne e da gordura utilizando colorímetro Hunter Miniscan, força de cisalhamento em texturômetro (Modelo TA XT-Plus – TextureAnalyser 2i), equipado com dispositivo Warner-Bratzler, perdas por cocção, capacidade de retenção de água, índice de fragmentação miofibrilar, composição centesimal da carne, oxidação lipídica e o perfil de ácidos graxos. O pH das carnes foi superior a 6, ocorrido em função do manejo pré-abate. Os animais suplementados com energia e terminados em pasto apresentaram a maior força de cisalhamento e perdas por cocção, os animais terminados em confinamento convencional apresentaram cor de gordura mais claras e menor teor de colágeno. A proporção de ácidos graxos monoinsaturados também foi maior em animais terminados em confinamento convencional, bem como os ácidos graxos n3 e n6. O histórico alimentar da recria alterou a qualidade da carne melhorando o perfil de ácidos graxos insaturados, a suplementação energética aumentaram os teores de CLA da carne. A terminação em confinamento convencional promove o depósito de gordura e o teor de ácidos graxos monoinsaturados. Os animais terminados em confinamento convencional apresentaram carnes de melhor qualidade de interesse aos consumidores.

Palavras – chave: CLA; DDG; histórico de recria

CHAPTER 5 – MEAT QUALITY OF NELORE YOUNG BULLS SUPLEMENTES ON POST-WEANING PHASE WITH DIFFERENT SOURCE OF NUTRIENT AND FINISHED IN PASTURE OR FEEDLOT

ABSTRACT - The aim of this study was to evaluate the use of supplements with different nutritional sources at the finishing phase, on conventional feedlot or express feedlot® system, on meat quality. During post-weaning phase, the animals were kept in pasture and submitted to four treatments: MM) mineral supplement; SB) multiple supplement with maize and soybean meal; SE) energy supplement and SD) multiple supplement with maize and DDG. The animals were finished in two systems: conventional feedlot and pasture with supplementation of high intake. The animals at pasture system were slaughtered at an average weight of 492 kg and animals at conventional feedlot at an average weight of 524 kg. The animals were slaughtered in the commercial slaughterhouse and were collected samples of *M. longissimus thoracis*. It was evaluated the pH, meat and fat color using Hunter Miniscan colorimeter, shear force with texturometer Model TA XT-Plus - TextureAnalyser 2i, cooking losses, water holding capacity, myofibrillar fragmentation index, meat centesimal composition, lipid oxidation and fatty acid profile. The pH of the meat was higher than six, and the meat of conventional feedlot system had the higher pH. Energy supplemented and pasture-finished animals had higher shear force and cooking losses, animals fed in conventional feedlot had lighter fat color and lower collagen content. The proportion of monounsaturated fats was also higher in animals finishing at conventional feedlot, as well as n3 and n6 fats. Nutritional management at post weaning phases alters meat quality improving the profile of unsaturated acids; supplementation with DDG increased CLA levels in meat. The finishing in conventional feedlot promotes fat deposit and monounsaturated fatty content. The animals finished in conventional feedlot have better quality meat of consumer's interest.

Keywords: CLA; DDG; nutritional management

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a maior prática de criação de bovinos é em pastejo extensivo. A intensificação do sistema permite que durante a recria, os animais apresentem ganhos adicionais de peso, que serão mantidos na terminação, possibilitando que o animal seja abatido mais jovem, trazendo vantagens a qualidade da carne. Um exemplo de intensificação do sistema é a suplementação em regime de pastejo. Neste caso, o suplemento é formulado em função da composição química do pasto, a fim de suprir os nutrientes deficientes (Euclides e Medeiros, 2005).

De acordo com Poppi e McLennen (1995), no período das águas, a forragem tem grande quantidade de proteína degradável no rúmen, em função das condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento da planta. Nessa situação, o suplemento a ser formulado deve ser energético ou múltiplo (proteico – energético), variando de acordo com a análise química do pasto. Levando em consideração esses conceitos, com o uso do suplemento ideal em relação ao pasto disponível, evita-se perdas de nitrogênio em ambiente ruminal pela carência de energia vinda da nutrição (Poppi e McLennen, 1995), otimizando a síntese de proteína microbiana, resultando em maior ganho de peso (Casagrande et al., 2013, Barbero et al., 2015) pela síntese de novos tecidos musculares.

Essa intensificação do regime de manejo, aumenta a taxa de crescimento dos animais, o que afeta a qualidade da carne (Ladeira & Oliveira, 2006), já que os animais são abatidos mais jovem. O sistema de terminação também tem grande importância na qualidade do produto final. Comumente, animais terminados em pasto, não recebem suplemento suficiente, e por isso, são abatidos com idade superior a 44 meses, o que segundo Kuss et al. (2010), prejudica principalmente a maciez da carne em função da formação de ligações estáveis entre as fibras de colágeno.

Quanto ao perfil de ácidos graxos, animais terminados em pasto, apresentam uma maior concentração de ácidos graxos poli-insaturados, benéficos a saúde humana, quando comparados a animais terminados em confinamento. Estudos comprovam que animais terminados em pasto, além de maior concentração de ácidos graxos insaturados, também têm teores de colesterol inferiores e quantidade de ácido linoleico conjugado (CLA), superior a animais sob regime de confinamento (Bressan

et al. 2011; Waren et al., 2008). Segundo Priolo et al. (2001), o uso de grãos na terminação, com intuito de aumentar a energia da dieta, contribui com a maciez e depósito de gordura subcutânea e intramuscular. Desta forma, a hipótese desse trabalho é o tipo sistema de terminação altera aspectos de cor da carne e gordura, força de cisalhamento, bem como o perfil de ácidos graxos encontrados quando animais são terminados com mesma idade. Objetivou-se nesse trabalho avaliar o impacto do uso de suplementos de diferentes fontes nutricionais na recria sobre a terminação e o tipo de sistema de terminação, pasto ou confinamento, sobre a qualidade da carne de tourinhos Nelore.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) de protocolo número 12703/15.

2.1. Área e período experimental

O experimento foi conduzido nas instalações do Setor de Forragicultura pertencente ao Departamento de Zootecnia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista em Jaboticabal, São Paulo, Brasil (21°15'22'' S latitude, 48°18'58'' 77 W longitude e 595 m). O clima típico da região é subtropical úmido, com inverno seco e verão chuvoso. A área experimental foi de 12 hectares (ha) constituída de capim *Urochloa brizantha* cv. Marandu, dividida em 12 piquetes manejados em lotação contínua, carga variável na altura de pasto de 25 cm. O experimento teve início em dezembro de 2016 e fim em agosto de 2017, quando os animais foram abatidos.

Não foi necessária a aplicação de calcário, segundo resultados obtidos da saturação por base (60%) e, foram aplicados 180kg N/ha/ano na forma de ureia, divididos em 3 aplicações de 60 kg/ha durante o período chuvoso.

2.2. Tratamentos

Na fase de recria, bovinos Nelore de 12 meses de idade foram sorteados ao acaso em quatro tratamentos em três repetições (piquetes) e arranjados em delineamento inteiramente casualizado durante quatro períodos experimentais de 28 dias cada, totalizando 112 dias. Inicialmente, os animais foram submetidos a 14 dias de adaptação a quatro dietas: MM) mistura mineral (*ad libidum*); FS) suplemento múltiplo (proteico - energético) com milho como fonte energética e farelo de soja como fonte proteica; SE) suplemento energético a base de milho e SD) suplemento múltiplo com milho como fonte energética e substituição de 100% da fonte proteica por DDG (41,32% de DDG na MS). Os suplementos concentrados foram fornecidos a 0,3% PC diariamente as 11 horas da manhã.

Foi adotado o método de pastejo de lotação contínua com taxa de lotação variável utilizando a técnica de “*put and take*” (Mott e Lucas, 1952), a fim de manter a altura do pasto a 25 cm. Foram utilizados 80 tourinhos da raça Nelore, com idade inicial média de 12 meses com peso corporal (PC) inicial médio de $251 \pm 13,18$ kg. Vinte animais foram mantidos permanentemente em cada tratamento (animais *testers*) para avaliação de desempenho e posteriormente qualidade de carne. Os sistemas de recria (tratamentos) avaliados no período chuvoso são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Composição dos suplementos utilizados na recria de tourinhos Nelore em pastos de capim Marandu durante o período das águas (2016/2017).

Ingrediente	Suplementos			
	MM	FS	SE	SD
<i>Ingredientes (kg na MN)¹</i>				
DDGS Milho	-	-	-	41,32
Milho Fubá	-	62,64	91,78	46,60
Soja Farelo	-	24,15	-	-
¹ Núcleo mineral	-	13,21	8,21	12,07
Suplemento mineral	100,00			
Total (Kg)	100,00	100,00	100,00	100,00
<i>Composição química dos suplementos (%MS)</i>				
FDNcp (%)	-	31,20	39,91	44,37
FDNi (%)	-	4,34	3,84	5,69
CNF(%)	-	31,32	64,00	34,65
NDT (%)	-	68,22	73,71	70,07
EE (%)	-	2,74	3,48	5,08
PB (%)	-	16,05	7,08	16,02
PDR (%)	-	64,22	59,22	58,65
PNDR (%)	-	35,78	40,78	41,35
Fração A (% PB)	-	18,09	23,27	13,41
Fração B1 (% PB)	-	10,37	3,64	6,34
Fração B2 (% PB)	-	65,82	57,50	71,45
Fração B3(% PB)	-	2,12	11,65	1,46
Fração C (% PB)	-	3,60	3,94	7,34

MM: mistura mineral; FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; ¹Níveis de garantia: FS: 26 g/kg Ca; 10 g/kg P; 5,2 g/kg S; 14 g/kg Na; 48,76 mg/kg Cu; 62,19 mg/kg Mn; 184,68 mg/kg Zn; 3,00 mg/kg I; SE: 1,99% Ca; 0,40% P; 0,62% S; 0,70% Na; 30,06 mg/kg Cu; 33,19 mg/kg Mn; 116,25 mg/kg Zn; 1,81 mg/kg I; SD: 2,37% Ca; 1,00% P; 0,89% S; 1,30% Na; 49,11 mg/kg Cu; 64,10 mg/kg Mn; 186,20 mg/kg Zn; 3,01 mg/kg I; Monensina 200 = 80 g/kg produto.

Durante o período chuvoso os pastos do tratamento sal acumularam 6950 kg/ha de massa de forragem total sendo 26,63% de folhas verdes, 28,73% de colmo associado a bainha e 41,62% de material morto. A análise da composição química da forragem apresentou 13,66% de PB e EB de 17,11 (MJ/kg MS). O tratamento com suplementação com farelo de soja acumulou 6790 kg/ha destes, 31,83% de folhas verdes e composição química de 14,06% de PB e 16,69 MJ/kg MS de EB, o tratamento energia acumulou 34,38% de folhas verdes em 6970 kg/ha, o tratamento apresentou 14,04% de PB e 16,97 MJ/kg MS de EB e, o tratamento DDG acumulou 7070 kg/ha destes, 35,45% de folhas verdes e composição química de 14,12% de PB e 16,85 MJ/kg MS de EB.

A média de ganho diário dos animais durante a fase de recria foi de 0,825kg; 0,920kg 0,970kg e 0,930kg para os tratamento MM; FS; SE e SD, respectivamente.

Os animais do tratamento SE apresentaram maior ganho em relação aos animais do tratamento MM.

2.3. Terminação em confinamento convencional

No início da estação seca, 40 animais da recria (com peso inicial de $387 \text{ kg} \pm 44,5 \text{ kg}$), 10 animais de cada tratamento da recria, foram terminados em confinamento no período de maio de 2017 a agosto de 2017, totalizando 120 dias. Os animais foram alojados em 12 baias coletivas: oito baias contendo três animais e quatro baias com quatro animais e foram adaptados a dieta durante 21 dias alterando, a cada 3 dias, a relação volumoso:concentrado da dieta. As relações utilizadas na adaptação foram de 72:28, 65:35, 58:42, 51:49, 44:56, 37:63 e, por fim, 30:70.

Tabela 2. Composição da dieta de terminação em confinamento convencional

<i>Ingredientes (% MS)</i>	Dieta	Silagem
Silagem de milho	30,00	-
Milho fubá	42,78	-
DDG	23,63	-
¹ Núcleo mineral	3,58	-
<i>Composição bromatológica (% MS)</i>		
MO	85,45	95,65
PB	14,80	8,53
FDN	20,94	58,25
EB (Mj/kg MS)	41,70	17,81
NDT	75,08	63,22

¹Composição núcleo: Ca – 6,6 g/kg; P – 3,4 g/kg; S – 8,9 g/kg; Na – 2,5 g/kg; Cu – 17,15 mg/kg; Mn - 47,23mg/kg; Zn - 69,52 mg/kg; Co – 96,6 mg/kg; I - 0,77mg/kg; Se 22,14 mg/kg; monensina sódica – 24,5 mg/kg.

Os animais destinados ao confinamento convencional foram retirados do pasto no início do mês de maio (final da recria) e alojados em baias coletivas, mantendo os blocos experimentais de cada tratamento, a fim de diminuir possíveis efeitos de ambiente, matendo os animais de mesmo piquete na recria em mesma baia do confinamento convencional. Os animais foram abatidos em agosto de 2017 com peso médio em torno de $524 \pm 33,64 \text{ kg}$ PC aos 22 meses de idade. O consumo de matéria seca total dos animais terminados em confinamento convencional foi de 13,45kg/dia.

2.4. Terminação em pasto com suplementação de alto consumo

Na terminação em pasto com suplementação de alto consumo, 40 animais (com peso inicial de $385 \text{ kg} \pm 42 \text{ kg}$) restantes continuaram no pasto. Os animais de mesmo tratamento de recria permaneceram no mesmo piquete durante a terminação, de modo que continuassem em seu lote de origem, a fim de reduzir potencial efeito de ambiente. Foram mantidos em 12 piquetes de pasto de capim Marandu manejado em sistema de pastejo contínuo e adaptados durante 21 dias a nova dieta. Nesse período, receberam de forma crescente a quantidade de concentrado, aumentando de 0,3% a 0,3% PC de suplemento a cada 3 dias. O concentrado utilizado foi o múltiplo contendo 33,76% de DDG na MS, que substituiu 100% da fonte proteica e parte da fonte energética (Tabela 3).

Após a adaptação, os animais foram manejados sob lotação contínua e foi ofertado, uma vez ao dia, uma quantidade de suplemento em virtude do consumo voluntário diário, a fim de avaliar o efeito dos históricos dos sistemas de recria permitindo sobra de 3 a 5% do ofertado. Os animais foram abatidos com peso médio de $493 \pm 24,93 \text{ kg PC}$ aos 22 meses de idade.

Tabela 3. Suplemento fornecido para bovinos de corte em fase de terminação no pasto de capim Marandu, na estação seca de 2017.

	Suplemento	Pasto
<i>Macro Ingredientes (%MS)</i>		
DDG	33,76	-
Milho	61,12	-
¹ Núcleo mineral	5,12	-
<i>Total</i>	100	-
<i>Composição bromatológica (%MS)</i>		
MO (%)	93,89	90,54
FDN (%)	41,76	61,44
Energia Bruta (MJ/kg MS)	18,44	17,41
EE (%)	5,01	2,98
PB (%)	18,5	12,33
PDR (%)	60,81	56,16
PNDR (%)	39,19	43,83
Fração A (% PB)	17,45	12,14
Fração B1 (% PB)	2,86	16,61
Fração B2 (%PB)	73,92	49,00
Fração B3 (% PB)	3,00	13,41
Fração C (% PB)	2,77	8,84

¹Composição núcleo: Ca – 6,6 g/kg; P – 3,4 g/kg; S – 8,9 g/kg; Na – 2,5 g/kg; Cu – 17,15 mg/kg; Mn - 47,23mg/kg; Zn - 69,52 mg/kg; Co – 96,6 mg/kg; I - 0,77mg/kg; Se 22,14 mg/kg; monensina sódica – 24,5 mg/kg; suplementação *ad libitum*.

Na estação seca, os piquetes que no período das águas alocavam os animais do tratamento sal, apresentaram a massa de forragem de foi de 5300 kg MS/ha, a análise da composição química da forragem apresentou 10,57% de PB e EB de 17,43 (MJ/kg MS). O tratamento que na recria os animais receberam suplemento com farelo de soja, na seca acumulou 5440 kg/ha destes, 16,82% correspondiam a folhas verdes e composição química de 12,34% de PB e 17,29 MJ/kg MS de EB, o tratamento energia acumulou 20,51% de folhas verdes em 5440 kg/ha, o tratamento apresentou 12,88% de PB e 17,56 MJ/kg MS de EB e, o tratamento DDG produziu 5440 kg/ha destes, 18,18% de folhas verdes e composição química de 11,77% de PB e 17,36 MJ/kg MS de EB. O consumo de matéria seca total dos animais terminados em pasto foi de 8,71 kg/dia.

2.5. Características da forragem

A altura do pasto foi mensurada semanalmente, na curvatura das folhas superiores com régua graduada em centímetros, totalizando 80 pontos por hectare.

Para estimativa da massa de forragem, quatro amostras foram colhidas por corte nos pontos médios em cada piquete, usando moldura circular de 0,25 m². As amostras foram separadas quanto às frações morfológicas: material morto, colmos mais bainhas ou folhas verdes, secos em estufa (55 ± 5° C por 72 h) para estimativa da massa seca por hectare.

Para estimar a composição química da forragem, amostras foram colhidas usando a técnica da simulação manual de pastejo (Sollerberge e Cherney, 1995). As amostras foram secas em estufa de circulação de ar forçado (55 ± 5° C, por 72 h), trituradas em moinho (Thomas-Wiley Laboratory Mill Model 4, H. Thomas Co.) em partículas de 1 mm, identificadas e encaminhadas para análises laboratoriais. Os teores de matéria seca (MS) foram determinados conforme procedimentos descritos em AOAC (1990). A proteína bruta (PB) foi determinada utilizando aparelho LECO® FP 528 (Leco corporation, Michigan, USA). A digestibilidade *in vitro* foi determinada com equipamento e metodologia ANKOM®, *Daisy*® (Ankon technologies, New York, USA) e, a energia bruta (EB) foi obtida utilizando bomba calorimétrica adiabática (PARR Instrument Company 6300, Illinois, USA), dada em megajoule (MJ).

2.6. Colheita de amostra

Os animais foram encaminhados ao frigorífico Minerva Foods em Barretos/SP, localizado a 92 km de Jaboticabal/SP. Animais de mesmo sistema de terminação foram abatidos no mesmo dia, dia 28/08/2017 foram abatidos os animais terminados em confinamento convencional e dia 29/08/2017 foram abatidos os animais do pasto. Em seguida, os animais foram insensibilizados com pistola pneumática de penetração para o abate. Após o abate, as carcaças foram resfriadas em câmara frigorífica a temperatura inferior a 5°C durante 24 horas.

Para análise de qualidade de carne, foram utilizadas amostras do *M. longissimus thoracis* (LT), retiradas da meia-carcaça esquerda, entre a 12^a e 13^a costelas. As amostras foram embaladas à vácuo em filme plástico, sendo imediatamente congeladas, após 24 horas de resfriamento, a - 20°C para posteriores determinações de força de cisalhamento, perdas por cocção, coloração da carne e da gordura subcutânea, pH, teor de colágeno, porcentagem de gordura intramuscular,

perfil de ácidos graxos e a composição centesimal da carne. O descongelamento foi realizado entre 2 a 5°C durante 24 horas, conforme recomendação de Savell et al. (1994).

2.7. pH

O pH foi medido na amostra por meio de peagômetro de punção direta com termômetro acoplado (Modelo HI 99163 - Hanna Instruments), previamente calibrado com soluções tampões de pH 4,0 e 7,0 (Merck).

2.8. Coloração da carne e da gordura subcutânea

A determinação da coloração da carne e gordura subcutânea (porção removida entre 12^a-13^a costelas) foi realizada como descrito por Houben et al., (2000) utilizando colorímetro Hunter Miniscan (Hunter Lab), para avaliação da L* (luminosidade: L* = 0 preto e L* = 100 brancos), a* representa intensidade de vermelho, variando de verde (0 a -60) a vermelho (0 a +60) e b* intensidade do amarelo, variando de azul (0 a -60) ao amarelo (0 a +60). Os aspectos de coloração foram avaliados pelo sistema CIE L* a* b* utilizando 0°/45°. Trinta minutos antes da avaliação, as amostras foram removidas da embalagem e a superfície foi exposta ao ar para oxigenação da mioglobina. Os mesmos procedimentos foram realizados com a coloração da gordura subcutânea. Após a exposição ao ambiente, durante 30 minutos a 25°C, a coloração foi avaliada em três diferentes pontos na superfície da carne e a média destes valores foi calculada. O colorímetro foi calibrado antes de iniciar as leituras nas amostras.

2.9. Força de cisalhamento

A força de cisalhamento foi determinada de acordo com os procedimentos da AMSA (1995). Para esta análise, foi utilizado um bife de 2,54 cm de espessura e cada amostra foi assada em forno pré-aquecido (180°C), com sua temperatura interna, monitorada por termopares. Após atingir a temperatura interna de 71°C, a amostra

foi retirada do forno e resfriada em geladeira por 24 horas a temperatura de 2 a 5°C. De cada bife foram retirados seis cilindros homogêneos, de 1,27 cm de diâmetro, de forma paralela à orientação das fibras musculares, evitando tecido conjuntivo e gorduras e, utilizando um amostrador de aço inox. As amostras cilíndricas foram cisalhadas perpendicularmente a orientação das fibras musculares. Os cilindros com temperatura entre 2 e 5°C foram avaliados em texturômetro (Modelo TA XT-Plus – TextureAnalyser 2i), equipado com dispositivo Warner-Bratzler com capacidade de 25 kg e velocidade do seccionador de 20 cm/min.

2.10. Perdas por cocção

Na avaliação de perdas por cocção, foram utilizadas as mesmas amostras da análise de força de cisalhamento. Estas foram pesadas antes de serem assadas em forno elétrico à temperatura de 180°C até atingirem 71°C no seu centro geométrico e, após 24h resfriando, foram pesadas novamente. Os pesos dos bifes antes e após a cocção foram utilizados para os cálculos das perdas totais de cozimento.

2.11. Capacidade de retenção de água

A determinação da capacidade de retenção de água foi efetuada em duplicata como descreve a metodologia de Hamm (1960). Utilizaram-se amostras de 500 mg, acondicionadas entre duas folhas de papel filtro, mantidas entre duas placas acrílicas sob ação de um peso de 10 kg, durante cinco minutos. Na sequência, a amostra de carne resultante foi pesada; por diferença foi calculada a quantidade de água perdida, em relação ao peso da amostra inicial, sendo a capacidade de retenção de água expressa em porcentagem de água perdida.

2.12. Índice de fragmentação miofibrilar

O índice de fragmentação miofibrilar foi feita pelo método descrito por Culler et al. (1978). De cada amostra ainda congelada, do *M. longissimus thoracis*, foram retirados três cilindros de 1,27cm de diâmetro, os quais foram picados, retirando-se

qualquer tecido conectivo ou gordura aparente. Quatro gramas do músculo picado foram homogeneizados em um aparelho homogeneizador de tecidos durante 30 segundos, com 40mL da solução de extração contendo KCl 100mM, fosfato de potássio 20mM, EDTA 1mM, $MgCl_2$ 1mM e azida sódica 1mM. Em seguida a solução homogeneizada foi centrifugada, por 15 minutos, a 1000 x g, a 4°C. Após descartar o sobrenadante, o precipitado foi disperso com 40mL da solução de extração, agitado com um bastão de vidro e centrifugado novamente, por 15 minutos, a 1000 x g a 4°C. Após descartar o sobrenadante, ao precipitado foram adicionados 10mL da solução de extração e a suspensão obtida foi passada através de uma peneira de polietileno para remoção do tecido conectivo. Mais 10mL da solução de extração foram utilizados para lavar e facilitar a passagem das miofibrilas através da peneira. Na suspensão das miofibrilas foi determinada a concentração de proteína pelo método do biureto. Uma alíquota da suspensão de miofibrilas foi diluída com solução de extração e colocada em uma cubeta, sendo logo em seguida feita a leitura da densidade ótica a 540nm em espectrofotômetro. Para obtenção do índice de fragmentação miofibrilar, foi multiplicado o valor obtido de densidade ótica a 540nm por 200.

2.13. NIRS – Foss FoodScan™

As amostras foram homogeneizadas para serem lidas no NIRS seguindo o método 2007.04 (AOAC, 2012b). Foram quantificadas a porcentagem de gordura intramuscular, umidade, proteína e colágeno em carne e produtos carnicos utilizando o Espectrofotômetro Infravermelho Próximo (NIR) FOSS FoodScan™ com modelo de calibração de rede neural artificial e banco de dados associado.

2.14. Oxidação lipídica

A avaliação da oxidação lipídica da carne foi realizada no *M. longissimus thoracis* através da metodologia descrita por Siu e Draper (1970), com algumas modificações, na qual se obtém o teor de mg malonaldeído/kg de carne. Cinco gramas de amostra foram pesadas e adicionadas 25 ml de ácido tricloroacético (7,5%) e homogeneizadas por 2 minutos. As amostras foram filtradas e 5 ml do filtrado foram adicionados em tubos de ensaio. Foi adicionado 5 ml de solução de

TBA (ácido tiobarbitúrico a 0,02M). Os tubos foram tampados e colocados em banho maria fervente por 40 min. Após esse tempo, os tubos foram resfriados em água corrente e lidos em espectrofotômetro com absorbância de 538 nm.

2.15. Perfil de ácidos graxos

Para análise do perfil de ácidos graxos, uma porção de 100 g foi separada das amostras retiradas do *M. longissimus thoracis*. A determinação da gordura intramuscular foi realizada utilizando-se uma porção in natura do músculo Longíssimos, que após ser triturada em homogeneizador de tecidos tipo TURRAX CT-132 foi submetida à extração dos lipídios por meio de etanol e clorofórmio (Bligh e Dyer, 1959). A quantificação dos lipídios foi feita pela diferença de peso de placas de petri contendo 4 ml do solvente residual extraído e evaporação em estufa a 105°C por 20 minutos. A preparação dos ésteres metílicos foi realizada por meio da modificação do método proposto por Hartman e Lago (1986). Alíquotas de 60 µL da gordura foram transferidas para tubos de ensaio com tampa rosqueada. Os lipídios foram hidrolisados com adição de 2,5 ml de solução de NaOH 0,5 N em metanol sob aquecimento a 70°C por 15 minutos para completa saponificação da amostra e obtenção de ácidos graxos livres. Após resfriamento, foram adicionados 7,5 ml de reagente de esterificação (HCl 0,5 N em metanol), aquecendo-se a 70°C por 10 minutos para formação dos ésteres metílicos. Após resfriamento, foram acrescentados 2mL de solução de NaCl 20% e 2 ml de hexano (grau HPLC). O tubo foi agitado em vortex e aproximadamente 1ml da fase superior contendo os ésteres metílicos foi coletado da fase superior. Os ésteres metílicos foram acondicionados em vidros de cor âmbar e estocados a -18°C, para a análise. As análises dos ésteres metílicos dos ácidos graxos da gordura do músculo *Longíssimus* foram realizadas em cromatógrafo a gás CG-14B, Shimadzu, equipado com detector de ionização de chama (FID).

2.16. Análise estatística

Para a análise dos dados foi adotado o delineamento experimental

inteiramente casualizado segundo um esquema fatorial 4x2 em que consiste quatro históricos de recria (MM; FS, SE e SD) e duas estratégias de terminação (em pasto com suplementação de alto consumo e confinamento convencional), com 10 repetições por tratamento (animais).

Foram testadas as pressuposições para análise de variância, e aplicado teste de Tukey para comparação de médias ($P < 0,05$), usando os procedimentos *PROC MIXED* do software SAS®, adotando o modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (A \times B)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = variável dependente;

μ = efeito geral da média;

A = sistema de recria, e “i” = número de níveis do fator “A”;

B = sistema de terminação, e “j” = número de níveis do fator “B” e;

ε_{ijk} = erro aleatório, considerando “k” = número de repetições.

3. RESULTADOS

O pH, força de cisalhamento e cor da carne e gordura não apresentaram interação entre o sistema de recria e os de terminação mas pode-se observar que todas as variáveis foram influenciadas por pelo menos um sistema de terminação, exceto a intensidade de vermelho da cor da carne (Tabela 4).

Tabela 4. Valores de pH, maciez e cor da carne e gordura de bovinos considerando os históricos da recria em pastos de capim marandu com suplementação e terminação em dois sistemas: pasto e confinamento.

	Recria				Terminação		EPM	Recria	Terminação	R X T
	MM	FS	SE	SD	CC	PS				
pH	6,23	6,20	6,11	6,17	6,33	6,03	0,043	0,7683	0,0003	0,2580
<i>Cor da carne</i>										
L	32,16	31,92	32,29	32,32	31,60	32,74	0,283	0,9561	0,0445	0,3978
a*	12,49	12,41	12,43	12,88	12,41	12,71	0,161	0,7154	0,3700	0,9126
b*	9,49	9,35	9,37	9,49	9,03	9,82	0,185	0,9881	0,0313	0,5264
<i>Cor da gordura</i>										
L	70,41	70,55	70,02	71,23	71,40	69,67	0,333	0,5823	0,0088	0,4149
a*	8,77	9,40	9,28	8,71	7,92	10,21	0,280	0,7033	<0,0001	0,2523
b*	18,84	19,07	18,59	19,42	17,64	20,39	0,310	0,6820	<0,0001	0,6044
FC	2,983B	3,431AB	4,295A	4,132AB	3,123	4,341	0,203	0,0408	0,0010	0,3041
Coc	21,49B	26,53AB	26,97A	24,41AB	22,45	27,37	0,774	0,0259	0,0006	0,4703
CRA	58,96	57,98	59,81	59,06	58,46	59,45	0,411	0,4628	0,2437	0,8861
IFM	23,13	17,61	20,43	17,52	21,8	17,53	0,830	0,0655	0,0121	0,4492
TBARS	0,223	0,224	0,219	0,217	0,234	0,208	0,005	0,9626	0,0158	0,8665

MM: mistura mineral; FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; CC: confinamento convencional; PS: terminação em pasto com suplementação de alto consumo; L: luminosidade; a*: intensidade de vermelho; b*: intensidade de amarelo; FC: força de cisalhamento em kgf; Coc: perdas por cocção em %; CRA: capacidade de retenção de água em %; IFM: índice de fragmentação miofibrilar; TBARS: oxidação lipídica em mg MDA/kg; EPM: erro padrão da média; Term.: sistema de terminação; R X T: interação entre sistema de recria e sistema de terminação. Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, maiúscula em relação ao histórico de recria e minúscula em relação ao sistema de terminação, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$;

O pH, maciez, luminosidade da carne e da gordura, intensidade de amarelo da carne e da gordura e a intensidade de vermelho da gordura diferiram quanto ao sistema de terminação. Destas, os animais terminados em pasto apresentaram maior força de cisalhamento ($p=0,001$), luminosidade ($p=0,0445$) e intensidade de amarelo da carne ($p=0,0313$) e intensidade de vermelho e de amarelo da gordura ($p<0,0001$). O pH e a luminosidade da gordura foram maiores nos animais terminados em confinamento convencional ($p<0,001$ e $p=0,0088$, respectivamente). O sistema de recria apresentou diferença na força de cisalhamento da carne ($p=0,0408$). Os animais do tratamento SE na fase de recria apresentaram maior força de cisalhamento comparado com o tratamento sal.

Quanto as características físicas da carne, as variáveis perdas por cocção, o índice de fragmentação miofibrilar e a oxidação lipídica diferiram quanto ao sistema de terminação ($p<0,05$). As perdas por cocção, além do sistema de terminação, também apresentaram diferença significativa quanto ao suplemento fornecido na recria.

Os animais suplementados com energia diferiram significativamente dos animais que receberam sal mineral durante a recria quanto as perdas por cocção ($p=0,0259$). A perda por cocção foi maior em animais terminados em pasto enquanto o índice de fragmentação e a oxidação lipídica foram maiores nos animais terminados em confinamento.

Os valores de composição química da carne avaliados estão apresentados na tabela 5. Não houve interação entre o sistema de recria e sistema de terminação em nenhuma das variáveis apresentadas. Os teores de umidade, cinzas, proteínas, gordura intramuscular e colágeno total não apresentaram diferença significativa quanto ao sistema de recria.

Tabela 5. Composição da carne de bovinos considerando os históricos da recria em pastos de capim marandu com suplementação e terminação em dois sistemas: pasto e confinamento.

	MM	Recria			Terminação		EPM	Recria	Term.	R X T
		FS	SE	SD	CC	PS				
Umidade	74,77	74,50	74,08	74,65	74,62	74,39	0,1725	0,5174	0,5071	0,3601
Proteína	20,91	21,07	21,18	21,13	20,77	21,38	0,1124	0,8501	0,0481	0,4046
Gor. Int.	1,60	1,45	1,41	1,42	1,66	1,28	0,0626	0,7062	0,0033	0,1244
Colágeno	1,49	1,50	1,47	1,53	1,38	1,61	0,0510	0,9820	0,0265	0,5263

MM: mistura mineral; FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; CC: confinamento convencional; PS: terminação em pasto com suplementação de alto consumo; EPM: erro padrão da média; Term.: sistema de terminação; R X T: interação entre sistema de recria e sistema de terminação. Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, maiúscula em relação ao histórico de recria e minúscula em relação ao sistema de terminação, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$.

As quantidades de umidade e cinzas presentes na carne também não sofreram efeito quanto ao sistema de terminação porém, a proteína, conteúdo de gordura intramuscular e colágeno se diferiram quanto ao sistema de terminação. Os teores de proteína e de colágeno foram menores em animais terminados em confinamento convencional e a gordura intramuscular foi maior nos animais desse sistema de terminação (Tabela 5).

Os teores de CLA (ácido linoleico conjugado) diferiu quanto ao sistema de recria ($p=0,0361$) e terminação ($p<0,0001$). Os animais suplementados com concentrado energético apresentaram o maior valor de CLA diferindo da carne dos animais suplementados com DDG (Tabela 6).

Tabela 6. Perfil de ácidos graxos da carne de bovinos considerando os históricos da recria em pastos de capim marandu com suplementação e terminação em dois sistemas: pasto e confinamento.

Ácidos	Nomenclatura	MM	Recria		Terminação		EPM	Recria	P valor		R X T
			FS	SE	SD	CC			PS	Term.	
Saturados											
Mirístico	C14:0	2,85	2,59	2,77	2,74	2,83	2,64	0,0684	0,6240	0,1781	0,3449
Palmítico	C16:0	24,27	23,76	24,16	24,13	24,51	23,65	0,2161	0,8678	0,0537	0,4774
Esteárico	C18:0	14,66	15,13	14,44	14,72	13,95	15,52	0,2365	0,8017	0,0019	0,5822
Araquídico	C20:0	0,11	0,11	0,11	0,11	0,10	0,11	0,0022	0,9867	0,0019	0,0640
Monoinsaturados											
Palmitoleico	C16:1	2,91	2,70	2,85	2,72	2,98	2,61	0,0634	0,5968	0,0063	0,3641
Oleico	C18:1n9c	36,52	36,16	36,50	34,63	38,17	33,74	0,3215	0,1368	<0,0001	0,2264
Poli-insaturados											
Linoleico	C18:2n6c	8,62	8,92	8,94	10,26	8,02	10,35	0,3709	0,4214	0,0030	0,2124
CLA	C18:2c9,t11	0,53AB	0,51AB	0,55A	0,46B	0,47	0,55	0,0109	0,0361	<0,0001	0,6617
α linolenico	C18:3n3	0,58	0,61	0,55	0,57	0,48	0,68	0,0198	0,7758	<0,0001	0,6162
Outros ácidos graxos											
-	-	8,95	9,58	9,14	9,68	8,50	10,18	0,01	0,4423	<0,0001	0,8196

MM: mistura mineral; FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; CC: confinamento convencional; PS: terminação em pasto com suplementação de alto consumo; CLA: ácido linoleico conjugado; EPM: erro padrão da média; Term.: sistema de terminação; R X T: interação entre sistema de recria e sistema de terminação. Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, maiúscula em relação ao sistema de recria e minúscula em relação ao sistema de terminação, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$.

Os ácidos esteárico, araquídico, linoleico, CLA e α linolenico apresentaram diferença significativa quanto ao sistema de terminação sendo maiores na carne dos animais terminados em pasto. Contudo, os ácidos monoinsaturados palmitoleico e oleico foram encontrados em maior quantidade nos animais terminados em confinamento convencional.

Quanto aos ácidos graxos totais, apresentados na Tabela 7, a terminação em confinamento convencional aumentou a quantidade de monoinsaturados totais ($p < 0,0001$), relação monoinsaturados:saturados totais ($p < 0,0001$), ω 3 ($p = 0,0021$) e ω 6 ($p = 0,0038$). Saturados totais, insaturados totais, poli-insaturados totais, relação insaturados:saturados totais, relação poli-insaturados:saturados totais e relação ω 6: ω 3 não diferiram entre si ($p > 0,05$).

Tabela 7. Ácidos totais da carne de bovinos considerando os históricos da recria em pastos de capim marandu com suplementação e terminação em dois sistemas: pasto e confinamento.

	Recria				Terminação		EPM	Recria	P valor	R X T
	MM	FS	SE	SD	CC	PS			Term.	
<i>Ácidos Totais</i>										
Saturados Totais	42,99	42,74	42,69	42,81	42,49	43,12	0,4036	0,9939	0,4452	0,6560
Insaturados Totais	56,84	56,84	57,32	57,47	57,40	56,98	0,4044	0,9509	0,6108	0,5120
Monoinsaturados Totais	43,41	42,70	43,28	41,56	44,80	40,68	0,3779	0,3066	<0,0001	0,4011
Polinsaturados Totais	13,45	14,35	13,77	15,31	12,63	16,30	17,14	0,5353	0,4738	0,5920
Ins:Sat	1,34	1,35	1,35	1,36	1,36	1,34	0,022	0,9800	0,5689	0,5569
Mono:Sat	1,01	1,00	1,02	0,98	1,06	0,95	0,0123	0,7153	<0,0001	0,5911
Poli:Sat	0,32	0,34	0,33	1,75	0,99	0,39	0,4068	0,5334	0,4736	0,5947
n3	2,07	1,97	1,85	1,79	2,20	1,63	0,0868	0,6927	0,0021	0,4880
n6	13,36	11,76	11,56	10,92	13,43	10,38	0,4974	0,3776	0,0038	0,2317
n6:n3	6,96 A	6,48AB	6,06AB	5,86B	6,52	6,18	0,1343	0,0374	0,2140	0,7995

MM: mistura mineral; FS: suplemento múltiplo com farelo de soja; SE: suplemento energético; SD: suplemento múltiplo com DDG; CC: confinamento convencional; PS: terminação em pasto com suplementação de alto consumo; Ins:sat: relação insaturados totais por saturados totais; Mono:sat: relação monoinsaturados totais por saturados totais; Poli:sat: relação poli-insaturados totais por saturados totais; n3: ácidos graxos grupo ômega 3; n6: ácidos graxos grupo ômega 6; n6:n3: relação ácidos graxos ômega 6 por ômega 3; EPM: erro padrão da média; Term.: sistema de terminação; R X T: interação entre sistema de recria e sistema de terminação. Médias na horizontal seguidas pela mesma letra, minúscula em relação ao sistema de terminação e maiúscula em relação ao sistema de recria, não diferem entre si. Tukey com $\alpha=5\%$.

4. DISCUSSÃO

O pH final corresponde ao acúmulo de ácido láctico, resultado da ressíntese de ATP a partir da glicose proveniente do estoque de glicogênio muscular (Domingues et al., 2015). Neste estudo, o pH final das amostras ficou acima de 6,0. Os valores observados excedem o mínimo de pH 5,8 dos cortes, considerado pelo Brasil, valor limite usados para exportações (Roça et al., 2001). Isso ocorreu pelo fato dos animais permanecerem em jejum pré-abate por 30 horas que, de acordo com Ramos e Gomide (2007), o jejum prolongado causam alterações no *rigor mortis*, característica da transformação do músculo em carne, que influencia na qualidade da carne.

A taxa de declínio do pH em carcaças, que influencia características visuais e de qualidade, tem relação com o músculo estudado e o tipo de fibra predominante (Joo et al., 2013), também é influenciado pelas reservas de glicogênio presentes no músculo que, se o animal sofrer estresse prolongado pré-abate, essas reservas são utilizadas em vida e no momento de transformação de músculo em carne há pouco substrato para produção de ácido láctico, causando assim, um pH final alto. O pH final tem grande relação com características de qualidade, principalmente a cor (Jeremiah et al., 1991; Wulf et al., 1997).

De acordo com Mancini e Hunt (2005), mudanças na cor do músculo quanto ao valor de L e b* podem ser atribuídos a dieta. No presente trabalho, os animais terminados em pasto apresentaram carne mais claras e com maior teor de amarelo. A cor da gordura também sofreu variação entre os sistemas de terminação. O alto pH (>6,0), permite que as proteínas se liguem mais fortemente com a água, diminuindo a água livre na carne (Lage et al., 2014). Essa característica, diminui os espaços entre as fibras (Page et al., 2001) e a luz refletida, o que reduz o valor de L da carne, como ocorreu com as carnes dos animais em confinamento convencional de maior pH.

Além das diferenças entre a cor da gordura entre raças e gênero, a idade e dieta exercem grande influência nessa variável (Dunne et al., 2009). A gordura dos animais terminados em pasto apresentou cor mais escura, avermelhada e com maior intensidade de amarelo quanto a gordura de animais terminados no confinamento convencional. O período em que o animal é submetido a uma mesma dieta afeta a cor da gordura (Moloney et al., 2008). O pasto fresco contém compostos químicos

chamados carotenoides que promovem cor amarela a gordura quando consumido regularmente (Dunne et al., 2009). No presente experimento, os animais foram abatidos com mesma idade, atribuindo assim, a diferença na cor da carne e gordura à dieta. Os carotenoides são acumulados nos adipócitos e, com o aumento de triglicerídeos na carne, observado nos animais terminados em confinamento convencional, espera-se uma diluição dos carotenoides e, em consequência, menor intensidade de b^* (Moran et al., 2017), como ocorreu no trabalho.

Os resultados de maciez da carne dos animais do estudo sofreram influência em função do tempo elevado em que os animais permaneceram em jejum (30 horas). Nessas condições, de estresse pré abate e tempo insuficiente para o estabelecimento do *rigor mortis*, ocorrem alterações na força de cisalhamento. O pH *post-mortem* é determinado pela produção de ácido láctico a partir da quantidade de glicogênio muscular, e este pode ser consumido durante o stress pré abate (Silva, 2017) decorrente do jejum prolongado, impedindo queda de pH, causando alterações na maciez pela não ativação de enzimas proteolíticas. O resfriamento, além de conservar o produto e inibir a proliferação de microrganismos (Souza et al., 2013), é muito importante para controlar a velocidade em que ocorrem as reações enzimáticas da transformação de músculo em carne (Pardi, 2006). No experimento, o estabelecimento adequado do *rigor mortis* foi prejudicado principalmente pelo jejum prolongado durante o manejo pré abate.

As perdas por cocção mostram grande associação entre a qualidade da carne uma vez que, no momento do consumo, pode influenciar a maciez. Essa característica representa a perda de água juntamente com pequena parte de gordura, componentes nitrogenados e minerais ligados a essa água (Lawrie, 1981). As perdas foram maiores nos animais terminados em pasto, que pode ter relação a maior força de cisalhamento encontrada e a quantidade de gordura intramuscular inferior desses animais, que é relacionada a suculência da carne pela ligação da molécula de água a de gordura (Costa et al, 2002) portanto, a carne do confinamento, com maior teor de gordura, apresentou menor perda por cocção.

O teor de colágeno também sofreu influência entre os sistemas de terminação, apresentando maior proporção em animais terminados em pasto. A quantidade de colágeno pode ter influenciado na maciez da carne desses animais. Cranwell et al.

(1996), afirmam que o que interfere na maciez é o colágeno termoresistente que é formado com o passar do tempo pela formação de ligações cruzadas entre suas fibras. Animais com rápido crescimento muscular podem apresentar diferentes valores de maciez quando comparados a animais de ganho de peso mais lento, pois animais de crescimento lento apresentam maior proporção de colágeno termoresistente (Crouse et al., 1986).

Del Campo et al. (2007), comparando a força de cisalhamento de animais terminados em pasto e confinamento com mesmo peso ao abate, mesmas condições de manejo e sanidade, observaram que animais em confinamento convencional apresentaram carnes mais macias. Os autores atribuíram este fato ao maior teor de colágeno insolúvel apresentado pelos animais terminados em pasto. No presente trabalho, os resultados se referem ao colágeno total da carne, sem diferenciação quanto sua solubilidade, porém é de conhecimento geral que animais a pasto tem a maciez comprometida (Menezes et al., 2010), em função do exercício praticado pelo animal, decorrente das mudanças de estações alimentares que fazem durante o pastejo. Esse exercício auxilia na alteração de colágeno solúvel para insolúvel (Vaz et al., 2007), garantindo maior resistência ao corte.

O principal fator para o aumento de gordura da carne é a energia da dieta (Domingues et al., 2015). O depósito de gordura na carcaça tem relação direta com a densidade energética da dieta e ganho de peso animal, uma vez que atendidas as exigências de manutenção, o excedente é direcionado para o depósito de reservas corporais (Menezes et al., 2014). No presente trabalho, os animais em confinamento convencional apresentaram maior consumo de matéria seca em comparação aos animais terminados em pasto (capítulo 3), garantindo maior substrato para o depósito de gordura

Segundo Hogberg et al. (2002), a oxidação lipídica ocorre a partir de ácidos graxos insaturados e, em pequenas quantidades, desenvolvem um sabor desejável à carne cozida (Farmer, 1992). Valores elevados de oxidação, causam a carne perda de cor, odor e sabor indesejável em função do tempo de armazenamento (Gray e Pearson, 1987). Rippol et al. (2011), definiram que 1mg de MDA/kg de carne é o limite máximo da aceitação dos consumidores quanto a oxidação lipídica, carnes com valores superiores aos citados conferem odor e sabor indesejáveis. Os animais

terminados em confinamento convencional tiveram o maior valor de oxidação lípida, fato este que pode ser atribuído a maior concentração de ácidos graxos monoinsaturados. Os resultados encontrados no presente estudo estão no limite aceitável descrito por Rippol et al. (2011).

As embalagens tem como função a proteção e o armazenamento do produto (Borges e Souza, 2019). A permeabilidade do material da embalagem também tem grande influência na qualidade do produto, uma vez que o contato com o ambiente causam alterações, como por exemplo na cor, degradação microbiana e oxidação (Realini e Marcos, 2014; Vital et al., 2016). Mesmo com o cuidado com o material de embalagem, o oxigênio residual na carne, presente durante o processo de embalar a carne, causaram as alterações de oxidação lipídica do trabalho, maior na carne dos animais em confinamento convencional em função do maior teor de gordura monoinsaturada desses animais.

De acordo com Demirel et al. (2006), gordura de cobertura, idade e peso ao abate, raça e nutrição podem influenciar o perfil de ácidos graxos. O perfil está diretamente ligado ao total de gordura da carcaça, especialmente à gordura intramuscular (Wood et al., 2008; Bressan et al., 2011), mesmo com dietas isocalóricas, não é comum encontrar o mesmo perfil de ácidos graxos (Bressan et al., 2011).

Os ácidos graxos advindos da dieta são modificados no rúmen, processo conhecido como biohidrogenação, a qual tende a converter ácido oleico, linoleico e linolênico em ácido esteárico. Zervas e Tsiplakou (2011), afirmam que a pequena quantidade desses ácidos poli-insaturados encontrados na carne é devido à alta taxa de síntese em ácido esteárico no rúmen. Grande quantidade de ácido esteárico chegam ao intestino enquanto o ácido linoleico representa cerca de 10 % (Ladeira et al., 2014), dados semelhantes aos valores encontrados neste estudo. Os animais terminados em pasto tiveram maior concentração de ácido graxo esteárico, porém, mesmo sendo um ácido saturado, não é considerado um ácido hipercolesterolêmico, pois o organismo rapidamente converte esse ácido em ácido oleico (Gómez et al., 2015).

O aumento nos ácidos graxos saturados na carne não é desejável pois podem elevar tanto as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) quando as lipoproteínas de

alta densidade (HDL). O ácido mirístico é o ácido mais hipercolesterolêmico, tem o potencial de aumentar o colesterol de 4 a 6 vezes a mais que o ácido palmítico (Mensin e Kata, 1992). Esses ácidos não apresentaram diferenças entre os tratamentos. A proporção do ácido mirístico e palmítico no *M. Longíssimos thoracis* é considerado alto, de aproximadamente 35% do total de ácidos (Oliveira et al., 2015).

Animais alimentados com grãos apresentam carne com maior marmorização e maior teor de ácidos graxos saturados que animais terminados em pasto (French et al., 2000; Darley et al., 2010; Bressan et al., 2011; Silva, 2014). O confinamento teve maior concentração de ácidos graxos monoinsaturados. Segundo Smith et al. (2009), a idade influencia muito esta relação, onde bovinos mais velhos aumentam do grau de marmorização e a atividade das enzimas delta – 9 dessaturase (Δ^9 dessaturases) e em consequência, aumentam os ácidos graxos monoinsaturados. A diferença encontrada no presente trabalho foi atribuída a dieta, a qual o consumo maior foi nos animais terminados em confinamento convencional (capítulo 3), proporcionando mais substrato para o depósito de gordura.

Os animais terminados em pasto apresentaram maior concentração dos ácidos linoleico, CLA e α linolênico na carne. Dietas que tendem a diminuir o pH ruminal, como dietas com concentrado, tem o potencial de diminuir a lipólise e biohidrogenação (Sackmann et al., 2003), causando mudanças na microbiota ruminal (Klieve et al., 2003). É de conhecimento que o CLA é produzido no rúmen durante a biohidrogenação do ácido linoleico e nos tecidos, pela dessaturação do ácido vacênico pela enzima Δ^9 desaturase (Hayashi et al., 2007). Os resultados do estudo são atribuídos ao maior consumo de concentrado, em proporção a relação total, dos animais da terminação em pasto, o que causou as alterações citadas por Sackmann et al., (2003).

Quando balanceados, a relação entre $\Omega 6$ e $\Omega 3$ é benéfica e tem papel essencial na resposta imune do corpo humano (Martins et al., 2018). Segundo os autores, o $\Omega 3$ está envolvido na produção de anticorpos e inibição e proliferação dos linfócitos, enquanto o $\Omega 6$ tem efeito na inibição e estimulação da resposta imune (Calder et al., 2009).

O balanço do consumo desses ácidos graxos é importante e recomendado para a nutrição humana. A carne de ruminantes é uma ótima fonte de poli-insaturados $\Omega 3$,

pela presença de 18:3 nas forragens. As concentrações de $\Omega 3$ e $\Omega 6$ foram maiores em animais terminados no confinamento convencional, resultado desejável uma vez que esses ácidos graxos essenciais são fundamentais para o bom funcionamento do organismo, são componentes de membrana, estão envolvidos em processos metabólicos e funções cerebrais (Fagundes, 2002). Uma dieta saudável, deve conter de 4 a 5 vezes mais $\Omega 6$ a $\Omega 3$ (World Health Organization, 2003). Esses ácidos graxos são essenciais ao metabolismo humano (Martins et al., 2018).

5. CONCLUSÃO

A força de cisalhamento depende do sistema de terminação quando tratam-se de animais de mesma idade. Os animais terminados em pasto apresentam carnes mais resistentes ao cisalhamento, com maior teor de colágeno e maiores perdas pos cocção.

O histórico alimentar da recria altera a qualidade da carne melhorando o perfil de ácidos graxos insaturados, a suplementação energética aumenta os teores de CLA da carne. A terminação em confinamento convencional promove o depósito de gordura e o teor de ácidos graxos monoinsaturados na carne dos animais quando comparada a carne de animais terminados em pasto.

A suplementação energética na recria e o sistema de terminação em confinamento convencional apresentam melhorias na qualidade da carne, logo podem ser utilizadas na produção animal com o intuito de produzir carnes conforme interesse dos consumidores.

6. LITERATURA CITADA

AMSA. Meat Color Measurement Guidelines – Revised December 2012. **American Meat Science Association**. Champaign, IL, USA, 136p.

AOAC - Association Of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis**. 15 ed., Arlington, 1990. 1117 p.

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (2012a) 19th Ed., **AOAC INTERNATIONAL**, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 2007.04.

Barbero RP, Malheiros EB, Araújo TLR, Nave RLG, Mulliniks JT, Berchielli TT, Ruggieri AC, Reis RA (2015) Combining Marandu grass grazing height and supplementation level to optimize growth and productivity of yearling bulls. **Animal Feed Science and Technology**, 209, 110-118.

Bligh EG, Dyer WJ (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry Physiology**, v.37, p.011-917.

Borges ACC, de Oliveira Souza SM. (2019). Controle de temperatura: importância e influência na qualidade da carne bovina. **PUBVET**, 13, 158.

Bressan MC, Rossato LV, Rodrigues EC, Alves SP, Bessa RJ, Ramos EM, Gama LT (2011) Genotype × environment interactions for fatty acid profiles in *Bos indicus* and *Bos taurus* finished on pasture or grain. **Journal of Animal Science**, 89, pp. 221-232.

Casagrande DR, Azenha MV, Vieira BR, de Resende FD, de Faria MH, Berchielli TT, Ruggieri AC, Reis RA (2013) Performance and carcass quality of feedlot- or pasture-finished Nellore heifers according to feeding managements in the postweaning phase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 42, p. 899-908.

Calder PC, Albers R, Antoine JM, Blum S, Bourdet-Sicard R, Ferns GA, Folkerts G, Friedmann PS, Frost GS, Guarner F, Løvik M, Macfarlane S, Meyer PD, M'Rabet L, Serafini M, van Eden W, van Loo J, Vas Dias W, Vidry S, Winklhofer-Roob BM, Zhao J. (2009). Inflammatory disease processes and interactions with nutrition. **British Journal of Nutrition**. 101:1-45. DOI: 10.1017/S0007114509377867

Costa EC, Restle J, Vaz FN, Alves Filho DC, Bernardes RALC, Kuss F (2002) Características da Carcaça de Novilhos Red Angus Superprecoces Abatidos com Diferentes Pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 31, 119–128.

Cranwell CD, Unruh JA, Brethour JR, Simms DD (1996) Influence of steroid implants and concentrate feeding on carcass and longissimus muscle sensory and collagen characteristics of cull beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, n.8, p. 1777-1783.

Crouse JD, Calkins CR, Seideman SC (1986) The effects of rate of change in body weight on tissue development and meat quality of youthful bulls. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 63, n. 7, p. 1824-1829.

Culler RD, Smith GC, Cross HR (1978) Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine *Longissimus* muscle. **Journal of Food Science**, v.43, p. 1777.

Darley CA, Abbot A, Doyle PS, Nader GA, Larson S, De Semet SR, Demeyer D. (2010) A review of fatty acid profiles and antioxidant content in grass-fed and grain-fed beef. **Nutrition Journal**, 9, pp. 1-12.

da Silva RM, Restle J, Missio RL, Lage ME, Pacheco PS, Bilego UO, Pádua JT, Fausto DA, (2014). Perfil de ácidos graxos da carne de novilhos europeus e zebuínos alimentados com milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 49(1), 63-70.

del Campo M, Brito G, Hernandez CP, de Lima JMS, Vaz, MD, San JR, Montossi, F, Sañudo C, (2007). Effect of different diets on carcass traits and meat quality in Uruguayan steers. **Proceedings** 53rd ICoMST. Eds. Zhou, G. and Zhang, W. China Agricultural University. Beijing, China, pp.285-286.

Demirel G, Ozpinar H, Nazli B, Keser O. (2006) Fatty acids of lamb meat from two breeds fed different forage: Concentrate ratio. **Meat Science**, 72, pp. 229-235.

Domingues JL, Nuñez AJC, Gomes RC, Valinote AC, Silva SL, Pereira ASC, Leme PR, Nogueira Filho JCM. (2015) Effect of high oil corn in the diets of Nellore steers on growth performance, carcass characteristics, meat quality, and longissimus muscle fatty acid profile. **LIVESTOCK SCIENCE**, 74, pp. 31-38

Dunne PG, Monahan FJ, O'Mara FP, Moloney AP (2009). Colour of bovine subcutaneous adipose tissue: A review of contributory factors, associations with carcass and meat quality and its potential utility in authentication of dietary history. **Meat Science**, 81, pp. 28-45.

Euclides VPB, Medeiros SR (2005) Suplementação animal em pastagens e seu impacto na utilização da pastagem. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 22. **Anais...**Piracicaba. Teoria e prática da produção animal em pastagens: anais. Piracicaba: Fealq, p.33-70.

Fagundes LA (2002) Ômega-3 & Ômega-6: o equilíbrio dos ácidos gordurosos essenciais na prevenção de doenças. **Porto Alegre: Fundação de Radioterapia do Rio Grande do Sul**, p. 111.

Farmer LJ (1992) **Meat flavor. In The chemistry of muscle- based foods**. Ledward DA, Johnston DE, Knight MK. (eds). Cambridge, Inglaterra: Royal Society of Chemistry, p. 167-182.

Forrest JC, Aberle ED, Hedrick HB, Judge MD, Merkel RA, (1975). Principles of meat processing. **Principles of meat science**, pp.190-226.

French P, Stanton C, Lawless F, O'Riordan EG, Monahan FJ, Caffrey PJ (2000). Fatty acid composition, including conjugated linoleic acid, of intramuscular fat from steers offered grazed grass, grass silage, or concentrate based diets. **Journal of Animal Science**, 78, pp. 2849-2855.

Gómez I, Mendizabal JA, Sarriés MV, Insausti K, Albertí P, Realini C, Perez – Juan M, Oliver MA, Purroy A, Beriain MJ. (2015) Fatty acid composition of young Holstein bulls fed whole linseed and rumen-protected conjugated linoleic acid enriched diets. **Livestock Science**, 180, pp. 106-112.

Gray JI, Pearson AM, (1987) **Rancidity and warmed-over flavor**. In: Restructured Meat and Poultry Products, Advances in Meat Research. Vol. 3. A. M. PEARSON; DUTSON, T. R. (Eds). Cap 6, p. 221-269.

Hamm R (1960). Biochemistry of meat hydration. **Advances of Food Research**, v. 10, p. 335 – 362.

Hamm R, Deatherage FE, (1960) Changes in hydration and charges of muscle proteins, during freeze-dehydration of meat. **Journal of Food Research** 25, 573-586.

Hartman L, Lago RCA, (1986) Rapid preparation of fatty acids methyl esters. **Laboratory Practices**, v. 22, n. 6, p. 475-476.

Hayashi AA, Medeiros SR, Carvalho MH, Lanna DPD. (2007) Conjugated linoleic acid (CLA) effects on pups growth, milk composition and lipogenic enzymes in lactating rats. **Journal of Dairy Research**, 74, pp. 160-166.

Hogberg A, Högberg A, Pickova J, Babol J, Andersson K, Dutta PC, (2002) Muscle lipids, vitamins E and A, and lipids oxidation as affected by diet and RN genotype in female and castrated male Hampshire crossbreed pigs. **Meat Science**. V. 60, p. 411-420.

Honikel KO, (1998) Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Science**, v.49, n.4, p.447-457.

Jeremiah IE, Tong AKW, Gibson II (1991). The usefulness of muscle color and pH for segregating beef carcasses into tenderness group. **Meat Science**, 30, 97 – 114.

Joo ST, Kim GD, Hwang YH, Ryu YC. (2013) Control of fresh meat quality through manipulation of muscle fiber characteristics. **Meat Science**, 95 pp. 828-836.

Klieve AV, Hennessy D, Ouwerkerk D, Forster RJ, Mackie RI, Attwood GT, (2003). Establishing populations of *Megasphaera elsdenii* YE 34 and *Butyrivibrio fibrisolvens* YE 44 in the rumen of cattle fed high grain diets. **Journal of Applied Microbiology**, 95, 621 – 630.

Kuss F, López J, Restle J, Barcellos JOJ, Moletta JL, Leite MCDP (2010). Qualidade da carne de novilhos terminados em confinamento e abatidos aos 16 ou 26 meses de idade. **Revista brasileira de zootecnia= Brazilian journal of animal science [recurso eletrônico]**. Viçosa, MG. Vol. 39, n. 4 (abr. 2010), p. 924-931.

Ladeira MM, Oliveira RL, (2006). **Estratégias nutricionais para melhoria da carcaça bovina**. Simpósio sobre desafios e novas tecnologias na bovinocultura de corte.– SIMBOI, 2.

Ladeira MM, Santarosa LC, Chizzotti ML, Ramos EM, Neto OM, Oliveira DM, Carvalho JRR, Lopes LS, Ribeiro JS (2014). Fatty acid profile, color and lipid oxidation of meat from young bulls fed ground soybean or rumen protected fat with or without monensin. **Meat Science**, 96, pp. 597-605.

Lage JF, Berchielli TT, San Vito E, Silva RA, Ribeiro AF, Reis RA, Dallantonia EE, Simonetti LR, Delevatti LM, Machado M. (2014). Fatty acid profile, carcass and meat quality traits of young Nellore bulls fed crude glycerin replacing energy sources in the concentrate. **Meat Science**, 96(3), 1158-1164.

Lawrie R. (1981) **Developments in meat science** Elsevier Applied Science, London, p. 342.

Luckett RI, Bidner TD, Icaza EA, Turner JW, (1975). Tenderness studies in straightbred and crossbred steers. **J. Anim. Sci.** 40:468.

Mancini RA, Hunt MC. (2005) Current research in meat color. **Meat Science**, 71, pp. 100-121.

Martins TS, Lemos MVA, Mueller LF, Baldi F, Amorim TR, Ferrinho AM, Muñoz JA, Fuzikawa HIS, Moura GV, Gemelli JL, Pereira ASC (2018). Fat deposition, fatty acid composition and its relationship with meat quality and human health. In: **Meat Quality and Nutrition**. USP, Pirassununga, São Paulo.

Menezes LFG, Segabinazzi LR, da Silva Freitas L, Restle J, Brondani IL, Callegaro AM, Joner G, Alves Filho, D. C.. (2014) Aspectos qualitativos da carcaça e carne de novilhos superjovens da raça Devon , terminados em pastagem tropical , recebendo diferentes níveis de concentrado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 3, p. 1557-1568.

Menezes LFG, Restle J, Brondani IL, Silveira MF, Freitas LS, Pizzuti LÂD. (2010). Características da carcaça e da carne de novilhos superjovens da raça Devon terminados em diferentes sistemas de alimentação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 39(3):667-676.

Moloney AP, Keane MG, Dunne PG, Mooney MT, Troy DJ (2008) Effect of concentrate feeding pattern in a grass silage/concentrate beef finishing system on performance, selected carcass and meat quality characteristics. **Meat Science**, 79, pp. 355-364.

Oliveira RL, Faria MM, Silva R, Bezerra LR, de Carvalho GGP, Pinheiro A, Simionato J, Leão AG. (2015) Fatty acid profile of milk and cheese from dairy cows supplemented a diet with palm kernel cake. **Molecules**, 20, pp. 15434-15448.

Pardi MC. (2006) **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. Volume I. 2ª edição. Editora UFG. pg. 491 – 503.

Pereira ASC. (2004) **Temperatura e qualidade da carne**. São Paulo. 2004. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/qualidade-dacarne/temperatura-e-qualidade-da-carne-18821/>>. Acesso em 09/08/2019.

Poppi DP, McLennan SR (1995) Protein and energy utilization by ruminants at pasture. **Journal of Animal Science**, v.73, p.278-290.

Prado CS. (2005) **Influência do Método de Resfriamento de Carcaças Bovinas nas Variações de Peso e nas Medidas físico-químicas, sensoriais e microbiológicas do Contra filé (m. Longissimus dorsi)**. Campinas, São Paulo. 167 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo. 2005.

Priolo A, Micol D, Agabriel J, (2001). Effects of grass feeding systems on ruminant meat colour and flavour: a review. **Animal Research**, v.50, p.185-200.

Ramos EM, Gomide LAM, (2007) **Avaliação da qualidade de carne: fundamentos e metodologias**. Viçosa: Ed. UFV, 599 p.

Realini CE, Marcos B. (2014). Active and intelligent packaging systems for a modern society. **Meat Science**, 98(3):404-419.

Rippol G, Joy M, Muñoz f, (2011). Use of dietary vitamin E and selenium (Se) to increase the shelf life of modified atmosphere packaged light lamb meat. **Meat Science**, v. 87, p. 88-93.

Roça RO, Padovani CR, Filipi MC, Schwach E, Uemi A, Shinkai RT, Biondi GF, (2001), Efeitos dos métodos de abate de bovinos na eficiência da sangria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.21, n.2, p.244-248.

Sackmann JR, Duckett SK, Gillis MH, Realini CE, Parks AH, Eggelston RB (2003) Effects of forage and sunflower oil levels on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. **Journal of Animal Science**, 81, pp. 3174-3181.

Savell J, Miller R, Wheeler T, Koohmaraie M, Shackelford S, Morgan B, Calkins C, Miller M, Dikeman M, McKeith F, Dolezal G, Henning B, Busboom J, West R, Parrish F, Williams S, (1994). Standardized Warner-Bratzler shear force procedures for genetic evaluation. **National Beef Tenderness Plan Conference**, April. Disponível em: <<http://meat.tamu.edu/research/shear-force-standards>> Acesso em: 27 jan. 2019.

Silva IGDS. (2017). **Carne PSE (pale, soft, exudative) e DFD (dark, firm, dry) em abate industrial de bovinos**. Brasília, Distrito Federal. 26 f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária.

Siu GM, Draper HH, (1978). A Survey of the Malonaldehyde Content of Retail Meats and Fish. **J. Food Sci.** 43, 1147-1149.

Smith SB, Gill CA, Lunt DK, Brooks MA, (2009). Regulation of fat and fatty acid composition in beef cattle. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, v.22, p.1225-1233.

Sollenberger LE, Cherney DJR, Barnes RF, Miller DA, Nelson CJ (1995). Evaluating forage production and quality. Forages, Vol. 2: **The Science of Grassland Agriculture**. Ames, pp. 97–110.

Souza MC, Teixeira LQ, Rocha CT, Ferreira GAM, Lima Filho T. (2013). Emprego do frio na conservação de alimentos. **Enciclopédia Biosfera**, 9(16):1028-1046.

Vital ACP, Guerrero A, Monteschio JO, Valero MV, Carvalho CB, Abreu Filho BA, Madrona GS, Prado IN. (2016). Effect of edible and active coating (with rosemary and oregano essential oils) on beef characteristics and consumer acceptability. **PlosOne**, 1(1):1-15.

Vaz FN, Restle J, Metz PAM, Moletta JL. (2008) Características de carcaça de novilhos Aberdeen Angus terminados em pastagem cultivada ou confinamento. *Ciência Animal Brasileira*, v. 9, n. 6, p. 590-597.

Warren HE, Scollan ND, Nute GR, Hughes SI, Wood JD, Richardson RI, (2008). Effects of breed and a concentrate or grass silage diet on beef quality in cattle of 3 ages. II: Meat stability and flavour. **Meat science**, 78(3), pp.270-278.

Werner JC, Paulino VT, Cantarella H, et al. Forrageiras. In: CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A.; FURLANI, A. M. C. (Eds.). *Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Anais...* Campinas: Instituto Agrônômico, 1996. p.263-273 (Boletim Técnico, 100).

Wood JD, Enser M, Fisher AV, Nute GR, Sheard PR, Richardson RI, Hughes SI e Whittington FM. (2008) Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. **Meat Science**, 78, pp. 343-358

World Health Organization (2003) Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. **Report of a joint OMS/FAO expert consultation**, OMS, Genebra, p. 916.

Wulf DM, O'Connor SF, Tatum JD, Smith GC. (1997) Using objective measures of muscle color to predict beef longissimus tenderness. **Journal of Animal Science**, 75, pp. 684-692.

Zervas G, Tsiplakou E, (2011). The effect of feeding systems on the characteristics of products from small ruminants. **Small Ruminant Research**, v. 101, p. 140-149.