



EDMILSON HELENO DOS REIS DOMINGUES

**QUALIDADE DA CARNE E EXPRESSÃO DE GENES
ENVOLVIDOS NA LIPOGÊNESE EM TOURINHOS NELORE
TERMINADOS COM DIETAS CONTENDO *SNAPLAGE***

LAVRAS – MG

2020

EDMILSON HELENO DOS REIS DOMINGUES

**QUALIDADE DA CARNE E EXPRESSÃO DE GENES
ENVOLVIDOS NA LIPOGÊNESE EM TOURINHOS
NELORE TERMINADOS COM DIETAS CONTENDO
*SNAPLAGE***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

Dr. Márcio Machado Ladeira
Orientador

**LAVRAS – MG
2020**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Domingues, Edmilson Heleno dos Reis.

Qualidade da carne e expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico de touros Nelore terminados com dietas contendo ou não silagem de espigas de milho (*Snaplage*) / Edmilson Heleno dos Reis Domingues. - 2020.

56 p.

Orientador(a): Márcio Machado Ladeira.

Coorientador(a): Mateus Pies Gionbelli.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. Qualidade da carne. 2. Expressão gênica. 3. Silagem de espigas. I. Ladeira, Márcio Machado. II. Gionbelli, Mateus Pies. III. Título.

EDMILSON HELENO DOS REIS DOMINGUES

**QUALIDADE DA CARNE E EXPRESSÃO DE GENES
ENVOLVIDOS NA LIPOGÊNESE EM TOURINHOS
NELORE TERMINADOS COM DIETAS CONTENDO
*SNAPLAGE***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 08 de outubro de 2020.

Dr. Thiago Fernandes Bernardes

UFLA

Dra. Josiane Fonseca Lage

TROW NUTRITION

Dr. Márcio Machado Ladeira

Orientador

LAVRAS – MG

2020

*A todos da minha família
que nunca mediram esforços
e sempre se sacrificaram
para que eu chegasse onde cheguei,
sempre me apoiando e ensinando
quais os valores que realmente importam.
Vocês são essenciais para meu sucesso!*

DEDICO

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, por ter me dado a vida e saúde para aproveitá-la.

Aos meus pais Edmilson e Cássia por todo o incentivo e trabalho para que eu tivesse a melhor educação ao seu alcance.

Ao meu irmão Edcássius, que mesmo com todos os problemas e dificuldades sempre se manteve um grande amigo, mesmo à distância.

A minha vó Tereza por todo amor, oração e dedicação em sempre me ver feliz.

A toda minha família pelo apoio incondicional e por fazerem o possível para estarem sempre presentes em todos os momentos mesmo à distância.

A Gabrielli pelo companheirismo, amor, ajuda, paciência e dedicação.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Márcio Machado Ladeira, pela confiança, paciência e pelos conhecimentos passados durante esse período.

Ao Prof. Dr. Thiago Fernandes Bernardes, pelo apoio, amizade, confiança e sugestões durante todo o trabalho.

Ao Prof. Dr. Mateus Pies Gionbelli e Prof. Dr. Daniel Rume Casagrande, pelo apoio e sugestões durante o mestrado.

A Dra. Josiane Fonseca Lage, pelo apoio e participação na banca examinadora.

A Dra. Priscilla Dutra Teixeira, pela amizade, empenho, dedicação e ajuda em todas as etapas desse trabalho.

Aos amigos que tocaram experimento junto comigo, Túlio e Elizanne, pelo empenho, por todas as horas dedicadas ao trabalho e pela amizade cultivada.

Ao Robson, pela amizade, ajuda e sugestões em todas etapas.

Ao Gabriel, pela amizade, dedicação e atenção em transmitir conhecimentos.

Ao José Maria pela amizade, empenho, dedicação e ajuda nesse trabalho.

A Dra. Tathyane Ramalho Santos Gionbelli pelo apoio e dedicação na realização das análises.

Aos amigos do NEPEC e do NEFOR por toda a ajuda, amizade e ensinamentos trocados.

A todos os amigos que dividiram casa comigo, pela amizade e paciência.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, pelo profissionalismo e disposição em ajudar.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia e ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização do curso.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001” ou em inglês “This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001

RESUMO GERAL

O objetivo desse estudo foi analisar a composição centesimal, características de qualidade da carne e expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico de tourinhos Nelore alimentados com dietas contendo silagem de espiga (*snaplage*). Foram utilizados 72 tourinhos Nelore com peso vivo médio inicial de $400 \pm 27,4$ kg em um delineamento inteiramente casualizado. As dietas experimentais foram controle, silagem de planta inteira, silagem de grão de milho reconstituído e grão de milho moído seco (CON), *snaplage* + milho grão moído (SNAP65, com 65% de *snaplage*) e *snaplage* (SNAP85, com 85% de *snaplage*). Após 86 dias de alimentação os animais foram abatidos e foram coletadas amostras do músculo *longissimus thoracis* (LT) entre 12^a e 13^a costelas para análise de expressão gênica e 24 horas após o abate foram coletadas amostras para análise de composição centesimal, perda de peso por cozimento (PPC), força de cisalhamento e cor. As dietas não afetaram o teor de gordura intramuscular ($P > 0,05$). Todavia, animais alimentados com SNAP85 apresentaram maior expressão de *PPARG* ($P = 0,03$). Além disso, o músculo de tourinhos alimentados com *snaplage* (SNAP65 e SNAP85) apresentaram maior expressão dos genes *ACACA* e *SCD1* ($P \leq 0,03$), em comparação com a dieta controle. Não houve efeito entre as dietas e interação dieta \times tempo para pH, PPC, força de cisalhamento e para os índices de cor L*, a* e b* ($P \geq 0,11$), tendo ocorrido apenas efeitos de tempo de maturação. PPC e o pH aumentaram com 14 dias de maturação, enquanto a força de cisalhamento reduziu com a maturação ($P \leq 0,04$). De forma geral, o uso de *snaplage*, tem a capacidade de aumentar a expressão de genes lipogênicos e potencial para aumentar a síntese de novo de gordura intramuscular. Entretanto, a inclusão de *snaplage* em 65 ou 85% (base da MS) na dieta de confinamento de animais zebuínos, não afeta composição química, maciez e coloração.

Palavras-chave: Lipogênese, marmoreio, *snaplage*.

GENERAL ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the chemical composition, qualitative characteristics of beef, and genes involved in lipid metabolism in Nellore young bulls fed *snaplage*. Seventy-two Nellore young bulls with initial body weight of 400 ± 27.4 kg were used in a completely randomized design. The experimental diets were control (CON, no *snaplage*), *snaplage* + ground corn (SNAP65, with 65% of *snaplage*) and *snaplage* (SNA85, with 85% of *snaplage*). After an experimental period of 86 days, the animals were slaughtered and muscle samples for expression analyses were taken from the *Longissimus thoracis* (LT) of the left half-carcass at the 13th rib, and twenty-four hours after slaughter, samples were taken to analyze chemical composition, pH, cooking loss, shear force, and color. There was no effect of diet in the intramuscular fat ($P > 0.05$) of diet. However, animals fed SNAP85 had greater expression of *PPARG* ($P = 0,03$). Additionally, the LT of bulls fed SNAP65 and SNAP85 had greater expression of *ACACA* e *SCD1* ($P \leq 0,03$) compared to control diet. There were no effects of diet and diet x aging time interaction for pH, cooking loss, shear force, and color ($P \geq 0,11$), but the aging time affected all variables. Cooking loss and pH increased with 14 days of aging, whereas shear force decreased with aging time ($P \leq 0,04$). In conclusion, the *snaplage* diet can increase the expression of lipogenic genes and has potential to increase de novo synthesis of intramuscular fat. However, the use of this diet in Zebu cattle does not affect chemical composition, shear force and color.

Keywords: Lipogenesis, marbling, *snaplage*.

Qualidade da carne e expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico em tourinhos Nelore terminados com dietas a base de silagem de espiga de milho (*snaplage*)

Elaborado por **Edmilson Heleno dos Reis Domingues** e orientado por **Márcio Machado Ladeira**

A utilização de dietas com alto amido tem se tornado cada vez mais comum em confinamentos de bovinos de corte no Brasil. Esse tipo de dieta influencia diretamente a qualidade da carne e a expressão de genes ligados à produção de gordura intramuscular (lipogênese intramuscular), pois quando se aumenta o amido na dieta aumenta também a produção de propionato no rúmen e esse é um importante substrato para gliconeogênese no fígado, essa glicose formada será então substrato para formação de gordura intramuscular (marmoreio) o que confere maior sabor e maciez à carne. No entanto quando se aumenta muito o amido acaba aumentando a fermentação e a produção de ácidos graxos voláteis no rúmen. Isso causa queda no pH ruminal o que muda a rota de biohidrogenação e inibindo a expressão de genes diretamente ligados a lipogênese intramuscular, por isso é importante ter um equilíbrio entre a quantidade de fibra fisicamente efetiva e a quantidade de amido na dieta. Diante disso, nosso objetivo foi analisar a composição centesimal, características de qualidade da carne e expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico de tourinhos Nelore alimentados com dietas contendo silagem de espiga (*snaplage*).

Os tratamentos não influenciaram a qualidade e as características qualitativas da carne dos animais, no entanto houve influência da presença de *snaplage* na expressão de genes ligados ao metabolismo lipídico, os resultados mostraram que a *snaplage* tem potencial de aumentar a gordura intramuscular, isso se deve ao fato de dessa silagem apresentar uma alta quantidade de amido e uma boa quantidade de fibra fisicamente efetiva, trazendo uma boa taxa de fermentação no rúmen e um bom controle do pH ruminal.

TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS



Controle

Silagem de planta inteira + silagem de milho reconstituído + milho grão moído



SNAP65

65% *snaplage* + milho moído



SNAP85

85% *snaplage*



LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Expressão relativa dos genes FABP4 (A) e LPL (B) no músculo *longissimus thoracis* de tourinhos Nelore, alimentados ou não com *snapple* 51
- Figura 2 Expressão relativa dos genes SREBF1(A), PPARG (B) e PPARA (C) no músculo *longissimus thoracis* de tourinhos Nelore, alimentados ou não com *snapple* 52
- Figura 3 Expressão relativa dos genes ACOX (A) e CPT2 (B) no músculo *longissimus thoracis* de tourinhos Nelore, alimentados ou não com *snapple* 53
- Figura 4 Expressão relativa dos genes ACACA (A), FASN (B) e SCD1 (C) no músculo *longissimus thoracis* de tourinhos Nelore, alimentados ou não com *snapple* 54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição percentual de ingredientes e centesimal das dietas experimentais	48
Tabela 2	Sequência (5' para 3') e eficiência dos primers que foram utilizados na PCR quantitativa e tempo real	49
Tabela 3	Composição química da carne de tourinhos Nelore alimentados ou não com dietas à base de <i>snaplage</i>	50
Tabela 4	Características qualitativas da carne de tourinhos Nelore alimentados ou não com dietas à base de <i>snaplage</i>	50
Tabela 5	Características qualitativas da carne de tourinhos Nelore alimentados ou não com dietas à base de <i>snaplage</i> em diferentes tempos de maturação	50

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	12
1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 Processamento e fermentação do amido	13
2.2 <i>Snaplage</i>	16
2.3 Fatores de transcrição	18
2.4 Captação, síntese e oxidação lipídica.....	20
3. REFERÊNCIAS	23
CAPÍTULO 2 – ARTIGO	30
Qualidade da carne e expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico em tourinhos Nelore terminados com dietas a base de silagem de espiga de milho (<i>snaplage</i>).....	30
1 INTRODUÇÃO.....	32
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	33
2.1 <i>Alimentação, animais, delineamento experimental, abate e amostragem das carnes</i>	34
2.2 <i>Composição centesimal</i>	35
2.3 <i>Coloração</i>	35
2.4 <i>Perda de peso por cozimento e Força de Cisalhamento</i>	35
2.5 <i>Expressão gênica – RT-qPCR</i>	36
2.6 <i>Análise estatísticas</i>	38
3 RESULTADOS	38
4 DISCUSSÃO	39
5 CONCLUSÃO.....	44
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

O milho é o ingrediente mais utilizado nas dietas de confinamento para bovinos de corte devido a sua alta densidade energética vinda do amido. Segundo Pinto e Millen (2018), em 85% dos confinamentos brasileiros, o milho está presente em mais de 50% da matéria seca da dieta. No entanto, a maior parte dos híbridos utilizados são do tipo duro ou *flint*, ou seja, possuem alta proporção de endosperma vítreo (BERNARDES et al., 2018), o que acarreta em diminuição na taxa de digestibilidade do amido. Portanto, uma forma de melhorar a taxa de degradação do amido presente no grão do milho é a utilização de processamento, como por exemplo a ensilagem.

Existem vários tipos de silagem, como a de grão de milho úmido ou reconstituído, a de planta inteira e a de espiga de milho (*snapple*). Vários trabalhos já foram realizados analisando os efeitos dos diferentes tipos de silagem na digestibilidade, desempenho e eficiência animal (FERRARETTO; CRUMP; SHAVER, 2013; HOFFMAN et al., 2011). Todavia, para a *snapple* os trabalhos com bovinos de corte são escassos no Brasil, mesmo com 11% dos confinamentos utilizando a *snapple* em suas dietas (BERNARDES; CASTRO, 2019). Em pesquisa realizada com bovinos de leite a utilização de *snapple* reduziu a ingestão de matéria seca pelos animais e aumentou a eficiência alimentar, provavelmente, devido a ensilagem aumentar a digestibilidade do amido (AKINS; SHAVER, 2014).

Quando se tem dietas com alta digestibilidade do amido há aumento na produção de propionato pelo rúmen, que é o substrato para gliconeogênese no fígado, aumentando assim a concentração de glicose, um precursor importante para a síntese de gordura intramuscular (SMITH et al., 1984). Além disso, a gordura intramuscular é mais sensível à insulina (GILBERT et al., 2003) e as dietas propiogênicas podem aumentar a insulina

26 plasmática, aumentando a captação de glicose pelo músculo (SMITH 2017; SMITH et
27 al., 2018), o que também aumentaria a deposição intramuscular de gordura. Por outro
28 lado, a alta inclusão de amido pode resultar em queda no pH ruminal, o que terá impacto
29 negativo para o marmoreio (TEIXEIRA et al., 2017), sendo portanto, a utilização de
30 *snaplage* uma alternativa que pode ser utilizada pelos nutricionistas para resolver esse
31 problema. Isto ocorre porque a *snaplage* possui em torno de 23% de FDN (NASEM,
32 2016) e 52% de amido, sendo a fibra dessa silagem teoricamente suficiente para suprir as
33 necessidades de animais em confinamento e controlar o pH ruminal (MERTENS, 1997),
34 ou seja, dispensaria a inclusão de outras fontes de fibras na dieta.

35 Diante disso, faz-se necessário ampliar os conhecimentos sobre como o uso de
36 *snaplage* afeta a composição química da carne, cor, força de cisalhamento e a expressão
37 de genes relacionados ao metabolismo lipídico de animais zebuínos em confinamento.

38

39 **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

40 **2.1 Processamento dos grãos de milho**

41 As dietas utilizadas nos confinamentos brasileiros têm sofrido mudanças com
42 aumento na proporção de concentrado na sua composição. Dos nutrientes existentes no
43 concentrado, o amido é o maior componente e o que fornece maior quantidade de energia
44 para bovinos em terminação (OLIVEIRA; MILLEN, 2014). Todavia, ruminantes não
45 produzem α -amilase salivar, ou seja, a primeira digestão do amido ocorrerá no rúmen,
46 onde o mesmo será fermentado à ácidos graxos voláteis (KOTARSKI; WANISKA;
47 THURN, 1992).

48 Há uma relação linear entre o consumo de amido e a quantidade de amido digerido
49 no rúmen, o que sugere a existência de um limiar muito alto para velocidade de
50 degradação ruminal (HARMON; YAMKA; ELAM, 2004). No entanto, dietas com alto
51 teor de amido podem levar a um aumento da fermentação ruminal. Porém, uma

52 fermentação rápida e excessiva de carboidratos altamente fermentáveis pode resultar em
53 acidose subclínica ruminal e com o decorrer do tempo em acidose clínica (OWENS et al.,
54 1998). Tal efeito foi mostrado no trabalho de Hamilton et al. (2019) no qual houve
55 diminuição da inclusão de silagem na dieta e consequente diminuição de fibra, ocorrendo
56 aumento na produção de ácidos graxos voláteis e diminuição no pH ruminal, causando
57 maior flutuação no consumo e redução da gordura de marmoreio.

58 A grande maioria dos confinamentos brasileiros utiliza o milho como fonte
59 principal de energia na dieta de bovinos de corte (PINTO; MILLEN, 2018). No entanto,
60 grande parte desse milho é do tipo duro (Flint), que possui maior proporção de
61 endosperma vítreo (BERNARDES et al., 2018; CORREA et al., 2002), o que reduz a
62 taxa de degradação de amido (PHILIPPEAU; LANDRY; MICHALET-DOREAU, 1998).
63 Diante disso, fatores como fonte do amido, método de processamento, nível de inclusão
64 e fonte de forragem utilizada devem ser considerados por influenciarem a taxa de
65 fermentação ruminal do amido (citar).

66 Em relação ao processamento do milho, Gorocica-Buenfil; Loerch (2005),
67 trabalharam com milho moído e não moído, e sugeriram que não há diferença para a
68 digestibilidade do amido e desempenho dos animais para esse processamento do grão. Da
69 mesma forma, Siverson et al. (2014), trabalharam com milho inteiro e milho laminado e
70 não encontraram diferença no desempenho e digestibilidade dos nutrientes para esse
71 processamento de milho. Ou seja, diversos trabalhos sugerem que não há efeito benéfico
72 de moagem no desempenho de bovinos de corte.

73 Diferentemente, outros processamentos de milho como a ensilagem e a floculação
74 podem melhorar o desempenho, a digestibilidade e as características de carcaça em
75 bovinos de corte (DE MELO et al., 2019). A ensilagem é um método de processamento
76 que tem apresentado bons resultados no aumento da digestibilidade de grãos de milho

77 (FERRARETTO et al., 2013), dessa forma esse tipo de processamento aparece como uma
78 alternativa viável para melhorar as características do milho e, conseqüentemente, o
79 desempenho dos animais.

80 De acordo com Oba e Allen (2003), a digestão ótima do amido ruminal depende
81 da fermentabilidade e da concentração de amido da dieta. Em média, 80% do amido em
82 ruminantes é degradado no rúmen e 95% no trato digestivo total (OWENS; ZINN; KIM,
83 1986). Kreikemeier et al. (1991) sugerem que há um limite na atividade das enzimas
84 carboidrases no pós-rúmen em degradar amido, pois ao avaliarem o desaparecimento de
85 carboidratos no intestino e o surgimento de glicose na veia porta, em animais com infusão
86 de glicose, amido de milho e dextrina de milho, encontraram um aumento linear
87 proporcional na absorção portal líquida de glicose apenas nas infusões de glicose.

88 Segundo OWENS et al. (2016), a eficiência energética com a qual o amido
89 digerido é usado pelos ruminantes varia com o local de digestão do amido, sendo menor
90 para o amido fermentado em ácidos graxos voláteis no rúmen, do que para o amido
91 digerido em glicose, que tem potencial de ser absorvida pelo intestino delgado. Ou seja,
92 seria melhor se mais de 75% do amido fosse digerido no intestino delgado do que no
93 rúmen (OWENS et al. (1986).

94 De forma geral, os principais produtos gerados pela fermentação da fibra no
95 rúmen são acetato e butirato. Por isso, dietas com maior teor de forragem tendem a
96 apresentar maior relação acetato:propionato (VAN SOEST, 1994). Por outro lado, em
97 dietas com maior concentração de amido, ocorre aumento na concentração de propionato
98 e, conseqüentemente, redução na relação acetato:propionato, devido a um aumento na
99 população de bactérias amilolíticas em relação às bactérias fibrolíticas (DEHORITY,
100 2003).

101 HUNTINGTON; HARMON; RICHARDS (2006) concluíram que aumentar a
102 eficiência de uso do amido para suportar maiores ganhos de peso ou maior marmoreio
103 pode resultar do aumento da digestão de amido em um rúmen saudável ou no intestino
104 delgado. Isso ocorre pois, segundo Smith e Crouse (1984) o acetato fornece de 70-80%
105 das unidades de acetil à lipogênese no tecido adiposo subcutâneo e 10-25% no tecido
106 adiposo intramuscular. A glicose fornece 50-75% de unidades de acetil para o tecido
107 intramuscular e apenas 1-10% das unidades de acetil para o tecido adiposo, mostrando
108 que o propionato é o principal precursor de gliconeogênese em ruminantes. Todavia,
109 trabalhos recentes (NAYANANJALIE et al., 2015; SMITH et al., 2018), demonstraram
110 que o acetato e o propionato são precursores para síntese de ácidos graxos nos
111 ruminantes, sendo o estado nutricional do animal e o teor de amido da dieta os principais
112 fatores que controlam a utilização dos precursores e a taxa de deposição de gordura.

113 De acordo com Eisemann e Huntington (1994) a contribuição do propionato na
114 gliconeogênese pode ser reduzida quando se trabalha com animais mais velhos e com
115 alto teor de gordura na carcaça. Isso ocorre porque há maior participação de aminoácidos
116 gliconeogênicos nesse processo. Dietas com alta fibra de forragem podem diminuir a
117 qualidade de carcaça (ARNETT et al., 2012), por diminuir a produção de propionato, o
118 que diminuiria o substrato para marmoreio. Assim é provável que animais mais velhos
119 terminados com dietas com fibra alta apresentem menor marmoreio.

120

121 **2.2 *Snaplage***

122 A *snaplage* é um tipo de silagem composta pela palha, sabugo e grãos do milho.
123 De acordo com NASEM (2016), o *snaplage* possui em torno de 23% de FDN, sendo uma
124 fibra de digestibilidade entre 55 a 70%, e que pode atender integralmente as exigências
125 de fibra de algumas categorias dentro do sistema de produção, como por exemplo animais

126 terminados em confinamento. Em outras palavras, a utilização do *snaplage* dispensaria a
127 inclusão de outras fontes de fibra na dieta, reduzindo os custos.

128 Pesquisas com a utilização de *snaplage* ainda são recentes, e principalmente em
129 bovinos de leite. Akins e Shaver (2014) encontraram redução no consumo de matéria seca
130 com utilização de *snaplage*, provavelmente, como consequência de uma maior
131 digestibilidade ruminal do amido. Apesar de ter diminuído o consumo, a utilização do
132 *snaplage* não alterou a produção de leite, o que resultou em aumento da eficiência
133 alimentar. Adicionalmente, a produção de leite corrigida para sólidos foi maior para vacas
134 alimentadas com *snaplage*. Trabalhando com animais de corte Salvo et al. (2020) não
135 encontraram diferença no desempenho e nas características de carcaça quando
136 compararam *snaplage* com silagem de planta inteira, mostrando que a FDN da *snaplage*
137 pode substituir a FDN da planta inteira sem causar prejuízos.

138 A alta umidade do *snaplage* pode aumentar a degradabilidade ruminal do amido
139 (MAHANNA, 2008) através da quebra da matriz proteica, resultando em maior atividade
140 de proteases durante a ensilagem (HOFFMAN et al., 2011; HOFFMAN et al., 2012).
141 Apesar do *snaplage* apresentar menor teor de amido e densidade energética que o milho
142 grão úmido ensilado, seu maior teor de fibra pode ajudar na manutenção do pH ruminal
143 e conseqüentemente prevenção de acidose ruminal (SWANSON; RICHARDS;
144 HARMON, 2002), dado que o sabugo e palha funcionam como fibra efetiva.

145 Em relação a bovinos de corte, apesar de não ter trabalhos com *snaplage*, existem
146 trabalhos utilizando *earlage* (silagem de grãos + sabugo). Johnson et al. (2016) avaliando
147 animais alimentados com diferentes tipos de silagem, encontraram que animais
148 alimentados com silagem de grão úmido tiveram menor consumo e maior ganho médio
149 diário do que animais alimentados com *earlage* e com silagem de planta inteira, no
150 entanto não houve diferença no retorno financeiro entre os tratamentos (JOHNSON;

151 HOHERTZ; DICOSTANZO, 2016). Hill et al. (1995) comparando a utilização de grão
152 de milho moído e *earlage* sem adição de forragem na dieta demonstraram que o uso de
153 *earlage* reduziu o consumo sem afetar o ganho de peso dos animais. Porém trabalhos
154 avaliando o efeito do *snaplage* e dessas outras ensilagens sobre qualidade de carne e
155 expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico de bovinos de corte ainda são
156 escassos.

157

158 **2.3 Fatores de transcrição**

159 A expressão dos genes, a síntese de RNAm, é controlada pela ligação de
160 determinados fatores de transcrição em sequências específicas do DNA. Esses fatores de
161 transcrição fazem parte do grupo de receptores nucleares no qual podem ser afetados
162 pelos nutrientes das dietas (OSORIO; MOISA, 2019). Diante disso, a influência dos
163 receptores nucleares sobre o metabolismo de ácidos graxos vêm sendo constantemente
164 estudada, já que existe a relação de fatores nutricionais com o metabolismo de gordura
165 (LADEIRA et al., 2016).

166 De acordo com Lemay e Hwang (2006) os receptores ativados por proliferadores
167 de peroxissoma (PPAR), são um dos receptores nucleares que têm funções significantes
168 na regulação da homeostase energética e no metabolismo dos nutrientes. O PPAR possui
169 diferentes isoformas, sendo o PPAR α mais importante na oxidação de ácidos graxos, por
170 induzir enzimas envolvidas na β oxidação, e o PPAR γ que é crucial no controle da
171 adipogênese e redução na sua expressão pode diminuir a expressão de genes responsáveis
172 pela síntese *de novo* (OLEFSKY; SALTIEL, 2000; OBSSEN et al. (2012); VYAS et al.,
173 2014).

174 Alguns trabalhos mostram que o PPAR α pode também atuar sobre enzimas
175 responsáveis pela síntese de lipídeos (BIONAZ; THERING; LOOR, 2012; TYAGI et

176 al., 2011), uma vez que apresenta correlação positiva com a expressão do gene *FASN*,
177 gene este envolvido na síntese *de novo* (BIONAZ et al., 2013; TEIXEIRA et al., 2017).

178 Os elementos reguladores de esterol ligados a proteínas (SREBP) são outros
179 fatores de transcrição que possuem papel fundamental na homeostase energética,
180 promovendo a lipogênese e adipogênese (LADEIRA et al., 2018; WATERS et al., 2009).
181 O SREBP regula a transcrição de genes de ativação, através da ligação ao elemento de
182 regulação de esterol (SRE), contidos no promotor do seu gene. Assim como o PPAR, o
183 SREBP possui várias isoformas (1a, 1c e 2). O SREBP-1c atua mais nos genes envolvidos
184 na síntese de ácido graxo e é codificado pelo gene do fator de transcrição do elemento
185 regulador do esterol 1 (*SREBF1*) (SHIMANO et al., 1997). O SREBP-2 tem mais
186 influência nos genes colesterogênicos (EBERLE et al., 2004).

187 A insulina é o principal sinal metabólico que estimula e regula o gene *SREBF1*,
188 enquanto que o glucagon reprime (DESVERGNE; MICHALIK; WAHLI, 2006). De
189 acordo com Assimacopoulos-Jeannet et al. (1995), a insulina apresenta um efeito a longo
190 prazo sob a regulação gênica de enzimas lipogênicas. Além disso, atua no recrutamento
191 de transportadores de glicose da membrana plasmática, aumentando a captação de glicose
192 pela célula adiposa (KERSTEN, 2001).

193 Além desses reguladores, trabalhos mostraram que alguns ácidos graxos
194 poliinsaturados podem reduzir a expressão da *SREBF1* e, conseqüentemente, reduzir a
195 lipogênese. De acordo com Teixeira et al. (2017), dietas ricas em grãos reduzem a
196 expressão do *SREBF1* devido à queda no pH ruminal alterar a via da biohidrogenação e
197 aumentar a produção do C18:2 trans10, cis12. Essa redução do *SREBF1* é responsável
198 por diminuir a lipogênese por reduzir a expressão dos genes acetil coA carboxilase e o
199 ácido graxo sintase no músculo, reduzindo a síntese de novo (HILLER et al., 2011).

200 **2.4 Captação, síntese e oxidação lipídica**

201 A lipogênese é o processo fisiológico de síntese endógena de ácidos graxos que
202 podem ser armazenados posteriormente no tecido adiposo (LADEIRA et al., 2018). A
203 deposição de gordura não ocorre de forma homogênea em todo o corpo do animal. O
204 primeiro depósito observado a formar é a gordura interna (abdominal, renal-inguinal e
205 pélvica), seguida pela gordura intermuscular, subcutâneo e por último a gordura
206 intramuscular (marmoreio) (PETHICK; HARPER; ODDY, 2004).

207 Para síntese de tecido adiposo, são necessários glicerol e ácidos graxos não
208 esterificados (AGNE). Em sua revisão, Pethick et al. (2004) mostraram que os AGNE
209 podem ser obtidos pela síntese *de novo* ou por meio de ácidos graxos absorvidos do
210 sangue.

211 Para que ocorra a captação, os triglicerídeos circulantes presentes nas
212 lipoproteínas, como os quilomícrons, devem primeiro serem quebrados pela lipoproteína
213 lipase (LPL) para liberar ácidos graxos livres (LADEIRA et al; 2016). A LPL é produzida
214 pelos adipócitos e secretada nos capilares do tecido (GOLDBERG; MERKEL, 2001).
215 Diante disso, a LPL, ao lado da GLUT4, pode ser usada como marcador de
216 desenvolvimento dos adipócitos (HOCQUETTE et al., 2010).

217 Após a liberação dos ácidos graxos livres na corrente sanguínea, para que entrem
218 no adipócito é necessário a utilização de transportadores, como a proteína de ligação ao
219 ácido graxo (FABP) (JURIE et al., 2007). O primeiro estudo que relatou atividade de
220 FABP4 em músculo esquelético bovino foi o de Moore et al. (1991), que mostrou que a
221 expressão desse gene pode ser um bom índice do potencial do animal em produzir gordura
222 de marmoreio. Da mesma forma, Jurie et al. (2007), mostraram que a FABP4 pode ser
223 usada como um marcador de adipócitos intramusculares. A FABP4 é importante no
224 mecanismo de transporte de ácidos graxos para os adipócitos pois atua tanto na saída, em

225 condições de catabolismo, quanto na entrada em condições de anabolismo (VURAL et
226 al., 2008).

227 De acordo com Ladeira et al. (2016), a síntese *de novo* ocorre pela ação da acetil-
228 CoA carboxilase, que é codificada pelo gene *ACACA* e do complexo enzimático ácido
229 graxo sintetase que é codificado pelo gene *FASN*. Após sua síntese ou absorção pelos
230 adipócitos os ácidos graxos podem sofrer a ação da enzima esteroil-CoA dessaturase,
231 codificada pelo gene *SCDI* que transforma o ácido graxo saturado em insaturado,
232 inserindo duplas ligações na cadeia. Vários trabalhos mostram que a expressão do gene
233 *SCDI* é influenciada pela dieta (GRAUGNARD et al., 2009; LADEIRA et al., 2014;
234 SEGERS et al., 2017; TEIXEIRA et al., 2017)).

235 Teixeira et al. (2017) mostraram que ao fornecer dietas que causam queda no pH
236 ruminal reduz a expressão do fator de transcrição *SREBF1* e conseqüentemente dos genes
237 *ACACA* e *SCDI* que são responsáveis por codificar as enzimas da síntese *de novo*. Ou
238 seja, dietas com amido altamente fermentável, que causa queda do pH do rúmen, podem
239 reduzir a lipogênese e conseqüentemente o marmoreio.

240 Em relação a lipólise, as enzimas de oxidação estão localizadas na matriz
241 mitocondrial, portanto os ácidos graxos livres são transportados para o interior da
242 mitocôndria através de carnitina palmitoil transferase (CPT1). Dentro da mitocôndria, a
243 CPT2, enzima ligada à membrana interna mitocondrial, libera o ácido graxo para sofrer
244 β -oxidação.

245 De acordo com Ladeira et al. (2018) mudanças no balanço entre a síntese e a
246 degradação de lipídios (*turnover* lipídico) podem resultar na redução ou no aumento do
247 marmoreio. Dessa forma, o aumento da captação e síntese de ácidos graxos aliada à
248 diminuição da oxidação estão associados ao aumento da deposição da gordura

249 intramuscular. Todo este processo é regulado pela expressão de genes, que podem sofrer
250 influência da dieta fornecida para os animais (LADEIRA et al., 2018).

251 Li et al. (2018) avaliando animais alimentados com dietas a base de milho em
252 várias idades constataram que a expressão de *FABP4*, *ACACA*, *SCD* e do *SREBF1*
253 aumentaram com o tempo, enquanto *FASN* e *PPARG* tiveram comportamento inverso. A
254 expressão de *PPARG* teve comportamento semelhante no trabalho de Smith et al. (2012)
255 e o *FABP4* teve o mesmo comportamento no trabalho de Moore et al., (1991). Os autores
256 mostram que a diminuição na diferenciação de adipócitos durante o período da engorda
257 pode ter sido a causa da redução da expressão de *PPARG* (LI et al., 2018; SMITH et al.,
258 2012).

3. REFERÊNCIAS

AKINS, M.; SHAVER, R. Effect of corn snaplage on lactation performance by dairy cows. **The Professional Animal Scientist**, v. 30, n. 1, p. 86-92, 2014.

ARNETT, E. et al. Effects of forage level in feedlot finishing diets on carcass characteristics and palatability of Jersey beef. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 3, p. 960-972, 2012.

ASSIMACOPOULOS-JEANNET, F. et al. In vivo effects of hyperinsulinemia on lipogenic enzymes and glucose transporter expression in rat liver and adipose tissues. **Metabolism**, v. 44, n. 2, p. 228-233, 1995.

BERNARDES, T.; CASTRO, T. PSXII-12 Silages and roughage sources in the Brazilian beef feedlots. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. Supplement_3, p. 411-411, 2019.

BERNARDES, T. et al. Silage review: Unique challenges of silages made in hot and cold regions. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 5, p. 4001-4019, 2018.

BIONAZ, M. et al. Functional Role of PPARs in Ruminants: Potential Targets for Fine-Tuning Metabolism during Growth and Lactation. **PPAR Research**, p. 28 págs., 2013.

BIONAZ, M.; THERING, B. J.; LOOR, J. J. Fine metabolic regulation in ruminants via nutrient–gene interactions: saturated long-chain fatty acids increase expression of genes involved in lipid metabolism and immune response partly through PPAR- α activation. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 02, p. 179-191, 2012.

CORREA, C. et al. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 11, p. 3008-3012, 2002.

DE MELO, A. H. F. et al. Effects of dietary roughage neutral detergent fiber levels and flint corn processing method on growth performance, carcass characteristics, feeding behavior and rumen morphometrics of *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, 2019.

DEHORITY, B. A. **Rumen microbiology**. Nottingham University Press Nottingham, 2003.

DESVERGNE, B.; MICHALIK, L.; WAHLI, W. Transcriptional regulation of metabolism. **Physiological Reviews**, v. 86, n. 2, p. 465 - 514, 2006.

- DUCKETT, S. K. et al. Palmitoleic acid reduces intramuscular lipid and restores insulin sensitivity in obese sheep. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 7, p. 553, 2014.
- EBERLE, D. et al. SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. **Biochimie**, v. 86, n. 11, p. 839 - 848, 2004.
- EISEMANN, J. H.; HUNTINGTON, G. B. Metabolite flux across portal-drained viscera, liver, and hindquarters of hyperinsulinemic, euglycemic beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 11, p. 2919-2929, 1994.
- FERRARETTO, L.; CRUMP, P.; SHAVER, R. Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion, and milk production by dairy cows through a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 1, p. 533-550, 2013.
- GILBERT, C. et al. Carcass, sensory, and adipose tissue traits of Brangus steers fed casein-formaldehyde-protected starch and/or canola lipid. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 10, p. 2457-2468, 2003.
- GOLDBERG, I. J.; MERKEL, M. Lipoprotein lipase: physiology, biochemistry, and molecular biology. **Frontiers in Bioscience**, v. 6, n. 6, p. D388-D405, 2001.
- GOROCICA-BUENFIL, M.; LOERCH, S. Effect of cattle age, forage level, and corn processing on diet digestibility and feedlot performance. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 3, p. 705-714, 2005.
- GRAUGNARD, D. E. et al. 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**, v. 10, n. 1, p. 142, 2009.
- HAMILTON, H. C. et al. Impact of Corn Silage Inclusion on Nutrient Digestion and Rumen Fermentation in Finishing Cattle. 2019.
- HARMON, D.; YAMKA, R.; ELAM, N. Factors affecting intestinal starch digestion in ruminants: A review. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, n. 3, p. 309-318, 2004.
- HARMON, D. L. et al. Net portal absorption of lactate and volatile fatty acids in steers experiencing glucose-induced acidosis or fed 70% concentrate diet ad libitum. **Journal of Animal Science**, v. 60, n. 2, p. 560-569, 1985.

HILL, W. et al. High moisture ear-corn with no added roughage for feedlot steers. **Animal Science Research Report**, v. 11, p.943, 1995.

HOCQUETTE, J. et al. Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. **Animal**, v. 4, n. 2, p. 303-319, 2010.

HOFFMAN, P. et al. Influence of ensiling time and inoculation on alteration of the starch-protein matrix in high-moisture corn. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 5, p. 2465-2474, 2011.

HOFFMAN, P. et al. A query for effective mean particle size in dry and high-moisture corns. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 6, p. 3467-3477, 2012.

HUNTINGTON, G. B.; HARMON, D. L.; RICHARDS, C. J. Sites, rates, and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle. **Journal of Animal Science**, v. 84(E. Suppl.), p. E14-E24, 2006.

JOHNSON, T.; HOHERTZ, A.; DICOSTANZO, A. Gross return to corn acres through cattle feeding as influenced by choice of harvest endpoint. **Journal of Animal Science**, v. 94, p. 48-48, 2016.

JURIE, C., CASSAR-MALEK, I., BONNET, M., LEROUX, C., BAUCHART, D., BOULESTEIX, P., ... & HOCQUETTE, J. F. Adipocyte fatty acid-binding protein and mitochondrial enzyme activities in muscles as relevant indicators of marbling in cattle. **Journal Animal Science**, v. 85, p. 2660-2669, 2007.

KERSTEN, S. Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis. **EMBO reports**, v. 2, n. 4, p. 282-286, 2001.

KOTARSKI, S. F.; WANISKA, R. D.; THURN, K. K. Starch hydrolysis by the ruminal microflora. **Journal of Nutrition**, v. 122, p. 178-190, 1992.

KREIKEMEIER, K. et al. Small intestinal starch digestion in steers: effect of various levels of abomasal glucose, corn starch and corn dextrin infusion on small intestinal disappearance and net glucose absorption. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 1, p. 328-338, 1991.

LADEIRA, M. M. et al. Review: Nutrigenomics of marbling and fatty acid profile in ruminant meat. **Animal**, p. 1-13, 2018.

LADEIRA, M. M. et al. 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**, v. 96, n. 1, p. 597-605, 2014.

LADEIRA, M. M. et al. Nutrigenomics and Beef Quality: A Review about Lipogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 6, p. 918, 2016.

LEMAY, D. G.; HWANG, D. H. Genome-wide identification of peroxisome proliferator response elements using integrated computational genomics. **Journal of Lipid Research**, v. 47, n. 7, p. 1583-1587, 2006.

LI, X. Z. et al. Adipogenic/lipogenic gene expression and fatty acid composition in chuck, loin, and round muscles in response to grain feeding of Yanbian Yellow cattle. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 7, p. 2698-2709, 2018.

MAHANNA, B. Bottom line: Renewed interest in snaplage displayed. **Feedstuffs**, v. 80, p. 50, 2008.

MERTENS, D. (1997). Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 80(7), 1463-1481.

MOORE, K. et al. Relationship between fatty acid-binding protein activity and marbling scores in bovine longissimus muscle. **Journal of Animal Science**, v. 69, n. 4, p. 1515-1521, 1991.

NASEM. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. Eighth Revised Edition. Washington, DC: National Academies Press., 2016. 475 ISBN 0309317029.

NAYANANJALIE, W. A. D. et al. Acetate and glucose incorporation into subcutaneous, intramuscular, and visceral fat of finishing steers¹. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 5, p. 2451-2459, 2015.

OBA, M.; ALLEN, M. Effects of corn grain conservation method on feeding behavior and productivity of lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 1, p. 174-183, 2003.

OBSEN, T. et al. Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases de novo lipid synthesis in human adipocytes. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, n. 6, p. 580-590, 2012.

OLEFSKY, J. M.; SALTIEL, A. R. PPAR γ and the treatment of insulin resistance. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 11, n. 9, p. 362-368, 2000.

OLIVEIRA, A.; MILLEN, D. Survey of the nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists in Brazil. **Animal Feed Science and Technology**, v. 197, p. 64-75, 2014.

OLIVEIRA, D. M. et al. Expression of genes involved in lipid metabolism in the muscle of beef cattle fed soybean or rumen-protected fat, with or without monensin supplementation. **Journal of Animal Science**, 2014.

OSORIO, J. S.; MOISA, S. J. Gene Regulation in Ruminants: A Nutritional Perspective. In: (Ed.). **Gene Expression and Control**: IntechOpen, 2019.

OWENS, C. E. et al. Mathematical linkage of total-tract digestion of starch and neutral detergent fiber to their fecal concentrations and the effect of site of starch digestion on extent of digestion and energetic efficiency of cattle. **The Professional Animal Scientist**, v. 32, n. 5, p. 531-549, 2016.

OWENS, F.; ZINN, R.; KIM, Y. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. **Journal of Animal Science**, v. 63, n. 5, p. 1634-1648, 1986.

OWENS, F. N. et al. Acidosis in cattle: A review. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 275-286, 1998.

PETHICK, D.; HARPER, G.; ODDY, V. Growth, development and nutritional manipulation of marbling in cattle: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 44, n. 7, p. 705-715, 2004.

PHILIPPEAU, C.; LANDRY, J.; MICHALET-DOREAU, B. Influence of the biochemical and physical characteristics of the maize grain on ruminal starch degradation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 10, p. 4287-4291, 1998.

PINTO, A. C.; MILLEN, D. D. Nutritional recommendations and management practices adopted by feedlot cattle nutritionists: the 2016 Brazilian survey. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 99, n. 2, p. 392-407, 2018.

SALVO, P. A. R., GRITTI, V. C., DANIEL, J. L. P., MARTINS, L. S., LOPES, F., SANTOS, F. A. P., & NUSSIO, L. G. (2020). Fibrolytic enzymes improve the nutritive value of high-moisture corn for finishing bulls. **Journal of Animal Science**, 98(2), skaa007.

SEGERS, J. et al. Effects of protein and fat concentration in coproduct-based growing calf diets on adipogenic and lipogenic gene expression, blood metabolites, and carcass composition. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 6, p. 2767-2781, 2017.

SHIMANO, H. et al. Isoform 1c of sterol regulatory element binding protein is less active than isoform 1a in livers of transgenic mice and in cultured cells. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 99, n. 5, p. 846-854, 1997.

SIVERSON, A. et al. Effects of corn processing and dietary wet corn gluten feed inclusion on performance and digestion of newly received growing cattle. **Journal of Animal Science**, v. 92, n. 4, p. 1604-1612, 2014.

SMITH, S. et al. Adipogenic gene expression and fatty acid composition in subcutaneous adipose tissue depots of Angus steers between 9 and 16 months of age. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 8, p. 2505-2514, 2012.

SMITH, S. B. Cell Biology Symposium: Practical application of the basic aspects of GLUT4 membrane trafficking and insulin signaling on issues related to animal agriculture. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 5, p. 2185-2197, 2017.

SMITH, S. B. et al. Glucose and acetate metabolism in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissues from steers infused with glucose, propionate, or acetate. **Journal of Animal Science**, v. 96, n. 3, p. 921-929, 2018.

SMITH, S. B.; CROUSE, J. D. Relative contributions of acetate, lactate and glucose to lipogenesis in bovine intramuscular and subcutaneous adipose tissue. **The Journal of Nutrition**, v. 114, n. 4, p. 792-800, 1984.

SMITH, S. B. et al. Interrelationships among diet, age, fat deposition and lipid metabolism in growing steers. **Development**, v. 3, n. 11, p. 12, 1984.

SWANSON, K.; RICHARDS, C.; HARMON, D. Influence of abomasal infusion of glucose or partially hydrolyzed starch on pancreatic exocrine secretion in beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 80, n. 4, p. 1112-1116, 2002.

TEIXEIRA, P. D. et al. Subspecies and diet affect the expression of genes involved in lipid metabolism and chemical composition of muscle in beef cattle. **Meat Science**, v. 133, n. Supplement C, p. 110-118, 2017/11/01/ 2017.

THEURER, C. B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 63, n. 5, p. 1649-1662, 1986.

TYAGI, S. et al. The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 2, n. 4, p. 236, 2011.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2nd. Ithaca, NY, USA: Comstock Publishing Associates, 1994. 476

VURAL, B. et al. Presence of fatty-acid-binding protein 4 expression in human epicardial adipose tissue in metabolic syndrome. **Cardiovascular Pathology**, v. 17, n. 6, p. 392-398, 2008.

VYAS, D. et al. Rosiglitazone, a PPAR- γ agonist, fails to attenuate CLA-induced milk fat depression and hepatic lipid accumulation in lactating mice. **Lipids**, v. 49, p. 641-653, 2014.

WATERS, S. M. et al. 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**, v. 87, n. 1, p. 244-252, 2009.

CAPÍTULO 2 – ARTIGO

Qualidade da carne e expressão de genes envolvidos no metabolismo lipídico em touros Nelore terminados com dietas a base de silagem de espiga de milho (*snaplage*)

Artigo formatado segundo as normas do periódico Meat Science

259 RESUMO: O objetivo desse estudo foi analisar a qualidade da carne, por meio da
260 composição centesimal, cor e força de cisalhamento, bem como a expressão de genes
261 envolvidos no metabolismo lipídico no músculo de tourinhos Nelore alimentados com
262 *snaplage*. As dietas experimentais foram controle (CON), *snaplage* + milho grão moído
263 (SNAP65, com 65% de *snaplage*) e *snaplage* (SNAP85, com 85% de *snaplage*). As dietas
264 não afetaram o teor de gordura intramuscular ($P > 0.05$). Todavia, animais alimentados
265 com SNAP85 apresentaram maior expressão de *PPARG* ($P = 0,03$). Além disso, o
266 músculo de tourinhos alimentados com *snaplage* (SNAP65 e SNAP85) apresentaram
267 maior expressão dos genes *ACACA* e *SCD1* ($P \leq 0,03$), em comparação com a dieta
268 controle. Conclui-se que dietas com o uso de *snaplage* tem potencial para substituir outros
269 tipos de silagem, já que elas aumentam a expressão de genes envolvidos na síntese de
270 lipídeos e mantiveram o fenótipo igual.

271

272 Palavras-chave: Lipogênese, marmoreio, *snaplage*.

273 1 INTRODUÇÃO

274 A demanda por carnes de qualidade está cada vez maior, buscando-se uma
275 produção de cortes com maior grau de marmoreio. A gordura intramuscular é importante
276 para realçar o sabor, a suculência e a maciez da carne (Dodson et al., 2010). No entanto,
277 para se obter maior marmoreio e melhor qualidade da carne é preciso fornecer dietas com
278 alta concentração de energia e amido (Ladeira et al., 2016; Zhang & Guan, 2019). Neste
279 caso, dietas com alta concentração de amido favorecerão a produção de propionato no
280 rúmen e, conseqüentemente, o aumento da circulação de glicose sanguínea que é uma
281 importante fonte de carbono para gordura intramuscular (Smith et al., 2018), afetando de
282 forma positiva, a textura e suculência da carne.

283 No entanto, de acordo com Teixeira et al. (2017) a alta inclusão de amido pode
284 resultar em queda do pH, o que impactaria negativamente o marmoreio. A redução do pH
285 pode alterar a microbiota do rúmen acarretando em mudanças nas rotas de
286 biohidrogenação, favorecendo a rota do ácido linoleico conjugado C18:2 *trans* 10, *cis* 12
287 (Bauman & Griinari, 2003). De acordo com Obsen et al. (2012), o aumento da
288 concentração de C18:2 *trans* 10, *cis* 12 acarreta diminuição na expressão dos fatores de
289 transcrição *PPARG* e *SREBF1*, reduzindo a síntese *de novo*. Teixeira et al. (2017) também
290 verificaram que o aumento no teor de C18:2 *trans* 10-*cis* 12 reduziram drasticamente a
291 expressão de *SREBF1*.

292 Neste sentido, várias estratégias têm sido utilizadas para evitar a queda no pH
293 ruminal e esse efeito negativo das dietas com alto amido. Dentre estas alternativas, a
294 adição de fibra por meio da silagem de espigas (*snaplage*) se parece promissora, pois
295 quando se substitui a fibra de silagem de planta inteira pela fibra de *snaplage* não afeta
296 negativamente o desempenho e rendimento de carcaça (Salvo et al., 2020). A *snaplage*
297 possui em torno de 23% de FDN (Nasem., 2016), o que representa um teor adequado de

298 fibra, além desta possuir um tamanho de partícula considerado fisicamente efetivo para
299 promover ruminação (> 4 mm) (Akins & Shaver., 2014) podendo ser utilizada como fonte
300 de fibra, trazendo maior saúde ruminal (Mertens, 1997). Além disso, esta silagem
301 apresenta 52% de amido com alta digestibilidade ruminal em sua composição, o que
302 poderia aumentar a produção de propionato no rúmen sem quedas significativas no pH
303 ruminal.

304 Apesar da *snaplage* ser utilizada em 11% dos confinamentos brasileiros
305 (Bernardes & Castro, 2019), trabalhos com bovinos de corte com esse alimento são
306 escassos na literatura científica, surgindo assim a necessidade de compreender como o
307 uso de *snaplage* poderia afetar a qualidade da carne, o marmoreio e a expressão de genes
308 relacionados ao metabolismo lipídico de animais em confinamento.

309 Portanto, há a hipótese que dietas com a utilização de *snaplage* aumentariam a
310 expressão de genes lipogênicos, resultando em maior teor de gordura de marmoreio, em
311 comparação à uma dieta com uso de silagem de planta inteira e silagem de milho
312 reconstituído. Para comprovar esta hipótese, objetivou-se analisar a qualidade da carne,
313 por meio da composição centesimal, cor e força de cisalhamento, bem como a expressão
314 de genes envolvidos no metabolismo lipídico no músculo de tourinhos Nelore
315 alimentados com *snaplage*.

316

317 2 MATERIAL E MÉTODOS

318 Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética e Bem-
319 Estar Animal da Universidade Federal de Lavras (Processo número 007/2019). O
320 experimento foi conduzido no setor de Bovinocultura de Corte do Departamento de
321 Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, Brasil.

322 2.1 Alimentação, animais, delineamento experimental, abate e amostragem das carnes

323 Foram utilizados 72 tourinhos Nelore com idade de 24 meses e peso vivo médio
324 inicial de $400 \pm 27,4$ kg em um delineamento inteiramente casualizado. Os animais foram
325 alojados em 24 baias coletivas com 3 animais cada, sendo que cada tratamento continha
326 oito repetições, pois as baias foram consideradas as unidades experimentais. As baias para
327 confinamento dos animais eram semi-cobertas, com dimensão de 4 x 10 m, piso em terra
328 e concreto próximo ao cocho, assim como, bebedouros coletivos a cada duas baias.

329 O período experimental foi de 86 dias de duração, incluindo um período de
330 adaptação de 15 dias. A dieta de adaptação continha bagaço de cana-de-açúcar e o
331 protocolo utilizado foi o *step up* (Tabela 1), sendo que a cada 5 dias ocorreu a diminuição
332 da quantidade de bagaço de cana e aumento da quantidade da dieta experimental. Após a
333 adaptação, os animais foram alocados em três tratamentos alimentares (Tabela 2):
334 controle (CON), *snaplage* + milho grão moído (SNAP65) e *snaplage* (SNAP85). As
335 dietas foram formuladas segundo o NASEM (2016) para ganhos de 1,5 kg/dia, com
336 fornecimento *ad libitum* duas vezes ao dia, às 07h30 e 15h30, mantendo um mínimo de
337 sobras de 3%. Independente dos tratamentos, os animais apresentaram consumo
338 semelhante de matéria seca (Controle: 11,51 kg/dia, SNAP65: 12,24 kg/dia e SNAP85:
339 12,14 kg/dia; $P = 0,27$), ou seja, apresentaram consumo semelhante de energia, uma vez
340 que a energia das dietas foi similar (Tabela 1).

341 Após os 86 dias de confinamento os animais foram abatidos utilizando a técnica
342 de concussão cerebral e secção da veia jugular, seguido de remoção do couro e
343 evisceração. Após a esfolagem foram retiradas amostras do músculo *longissimus thoracis*
344 (LT) da meia-carcaça esquerda na altura da 13^a costela e transportadas em nitrogênio
345 líquido para análise de expressão gênica. Vinte e quatro horas após resfriamento das
346 carcaças, foram coletados 3 bifês de 2,54 cm de espessura por animal. Um bife foi

347 utilizado para determinar a composição centesimal e dois bifes foram embalados a vácuo
348 (Packer model BS420, Ubá, MG, Brasil) em sacos de nylon-polietileno e armazenadas a
349 $1^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ para determinação da coloração, perda de peso por cozimento (PPC) e força
350 de cisalhamento (FC), onde cada bife foi utilizado para um tempo de maturação (0, logo
351 após o abate e 14 dias post mortem).

352

353 *2.2 Composição centesimal*

354 A análise de composição centesimal foi realizada usando o infravermelho próximo
355 de acordo com o método 2007-04 da AOAC, por meio do equipamento FoodScan™
356 (FOSS, Hillerod, Dinamarca) no Laboratório de Qualidade de Carne do Departamento de
357 Zootecnia da UFLA.

358

359 *2.3 Coloração*

360 A determinação dos componentes da cor foi realizada após a retirada das amostras
361 de carne das embalagens a vácuo e expostas ao ar atmosférico por 30 minutos, para
362 oxigenação da mioglobina (Abularach et al., 1998). A leitura da cor foi realizada na
363 superfície dos bifes utilizando o equipamento Minolta CR-400 colorimeter (Konica
364 Minolta, Osaka, Japan), calibrado para um padrão branco. Foi utilizado o sistema CIE
365 $L^*a^*b^*$, iluminante A e 10° graus para observador padrão. Foram realizadas seis leituras
366 por fatia, sendo as médias das leituras em cada bife utilizadas na análise estatística.

367

368 *2.4 Perda de peso por cozimento e força de cisalhamento*

369 A perda de peso por cozimento foi realizada por diferença no peso do bife antes e
370 depois de assado em uma chapa tipo “Grill” pré-aquecida a 200°C , em que a temperatura
371 interna de cada bife foi controlada por um termômetro com haste inserida horizontalmente

372 até o ponto central do bife atingir 71°C. Após este processo, cada bife foi acondicionado
373 à temperatura ambiente e, após estabilizarem sua temperatura, foram pesados para a
374 obtenção da PPC (AMSA, 1978).

375 A Força de cisalhamento foi obtida nas mesmas amostras utilizadas para a PPC.
376 Foram obtidas seis amostras retangulares com 1 cm² por 3 cm de comprimento por bife,
377 com a direção das fibras paralelas ao comprimento, livres de gordura e nervos (Ramos &
378 Gomide, 2007; Silva, Moura, Ramos, & Ramos, 2017). As amostras foram cisalhadas,
379 por completo, perpendicularmente à direção das fibras, por uma lâmina do tipo Warner-
380 Bratzler de 1,016 mm, a uma velocidade de 200 mm/minuto (Ramos e Gomide, 2007),
381 utilizando o aparelho MTA.TX.plus (Stable Micro Systems Ltd., Vienna Court, UK).

382

383 *2.5 Expressão gênica – RT-qPCR*

384 Para análise de expressão gênica foram coletadas amostras de um animal de cada
385 baia. O RNA total foi isolado a partir do tecido muscular congelado usando o reagente
386 QIAzol (QIAGEN, Valência, CA) e tratado com o Kit Turbo DNA-free (Invitrogen) de
387 acordo com as instruções do fabricante. Para a avaliação da integridade das amostras
388 extraídas, o RNA foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1,0% (m/v) corado com
389 GelRed Nucleic Acid Gel Stain e visualizado em fotodocumentador E-Gel® Imager
390 Camera Hood (Life Technologies, Neve Yamin, Israel) para análise das bandas 28S e 18S
391 do RNA ribossomal (rRNA). As amostras foram quantificadas em espectrofotômetro
392 DeNovix DS-11/DS-11 + Spectrophotometer (Wilmington, DE, USA) a 260 nm com o
393 objetivo de avaliar a quantidade (ng/μL) e qualidade (260/280 e 260/230) do RNA.

394 A síntese de cDNA foi realizada com o Kit High-Capacity cDNA Reverse
395 Transcription (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) de acordo com as indicações
396 do fabricante e, após o processo, as amostras foram armazenadas em freezer a -20°C.

397 Para a análise da expressão gênica quantitativa por RT-qPCR foi utilizado o
398 termociclador Eppendorf Realplex (Eppendorf, Hamburg, Germany), utilizando o sistema
399 de detecção SYBR Green (Applied Biosystems, USA) e o cDNA obtido a partir de RNA
400 extraído. As condições térmicas de reação foram de 2 minutos a 50°C, 10 minutos a 95°C
401 seguidos por 40 ciclos de 15 segundos 95°C e 1 minuto a 60°C e, finalizando com 15
402 segundos a 95°C. Para cada reação foi utilizado 1,0 µL de cDNA, 0,3 µL de cada primer
403 (forward e reverse) e 5,0 µL de Master Mix SYBR Green para um volume final de 10,0
404 µL/amostra em uma placa de reação com 96 poços MicroAmp Optical (Applied
405 Biosystems, Foster City, CA, USA). Os controles negativos e curvas de melting foram
406 incluídos em todas as análises.

407 Todo o experimento de RT-qPCR, para cada gene em estudo foi conduzido a partir
408 de cDNAs de oito repetições biológicas, com duas réplicas técnicas para cada uma, sendo
409 os resultados normalizados usando CTs (Ciclo Threshold) obtidos pela expressão de dois
410 genes de referência (*ACTB* e *GAPDH*). Os genes de referência foram escolhidos com base
411 na literatura (Oliveira et al., 2014; Teixeira et al., 2017) e valores de CT. Como um dos
412 requisitos necessários para a utilização deste método, foi realizado um ensaio de validação
413 para mostrar que as eficiências de amplificação dos genes alvo e de referências são
414 aproximadamente iguais (Tabela 3). Para isto, foram realizadas curvas padrões para os
415 genes em estudo nas seguintes diluições: 1:5, 1:25, 1:125, 1:625 e 1:3125. Os níveis de
416 expressão relativos foram calculados de acordo com o método descrito por Pfaffl (2001)
417 que se baseia nos valores de Ct que são corrigidos para a eficiência de amplificação para
418 cada par de primers.

419

420 2.6 Análise estatísticas

421 Os dados de composição química e outros parâmetros de qualidade da carne foram
422 analisados utilizando o procedimento MIXED do Software SAS (SAS Inst. Inc., Cary,
423 NC), com tratamentos como efeito fixo e baia como efeito aleatório. Todos os dados
424 foram analisados de cada animal individualmente, usando a baia como unidade
425 experimental.

426 Os dados de expressão gênica foram analisados considerando modelo de efeitos
427 fixos contendo os seguintes termos:

$$428 Y_{ijk} = \mu + D_i + e_{ijk}$$

429 onde, Y_{ijk} é a medida observada; μ é a média geral; D_i é o efeito fixo do nível i do
430 tratamento dietético (3 níveis) e e_{ijk} é o erro aleatório associado a Y_{ijk} , com $e_{ijk} \sim N(0, \sigma_e^2)$.
431 Antes das análises finais, os dados extremos foram removidos quando os
432 resíduos studentizados não estavam dentro de ± 3 desvios padrão. A normalidade (P-valor
433 $> 0,05$) foi avaliada usando o teste de Shapiro-Wilk. Como esperado, os dados de
434 expressão gênica não foram normais e foram transformados usando o procedimento
435 RANK do SAS 9.2 (Statistical Analysis System Institute, Inc., Cary, NC, EUA). As
436 médias dos mínimos quadrados foram estimadas usando o teste de diferença mínima
437 significativa de Fisher. Para médias diferentes, comparações múltiplas foram realizadas
438 pelo teste de Tukey.

439 Os valores de $P \leq 0,05$ foram considerados significativos e $P > 0,05$ a $P \leq 0,10$
440 como tendência para características qualitativas da carne e $P \leq 0,10$ foi considerado
441 significativo para expressão gênica.

442

443 3 RESULTADOS

444 A expressão dos fatores de transcrição *SREBF1* e *PPARA* não foram influenciadas
445 pelas dietas (Figuras 1A e 1C). Todavia, o músculo dos animais alimentados com a dieta
446 SNAP85 apresentaram maior expressão do *PPARG*, quando comparado aos animais
447 alimentados com as dietas SNAP65 e controle (Figura 1B). As dietas também
448 influenciaram a expressão de genes marcadores da síntese lipídica *de novo*, sendo as
449 expressões dos genes *ACACA* e *SCD1* maiores no músculo LT dos animais alimentados
450 com ambas as dietas contendo snaplage (Figura 2A e 2C). Entretanto, os tratamentos não
451 influenciaram a expressão da *FASN* (Figura 2B).

452 Com relação aos genes de captação de ácidos graxos, o gene *FABP4* apresentou
453 tendência de maior expressão no músculo dos animais alimentados com SNAP85 quando
454 comparado ao SNAP65, não havendo diferença entre o tratamento controle e a dieta
455 SNAP85 (Figura 3A). A expressão de *LPL* não foi alterada independentemente da dieta
456 (Figura 3B), assim como não houve efeito das dietas sobre os genes marcadores dos
457 processos de oxidação *ACOX* e *CPT2* (Figura 4).

458 A composição química (umidade, proteína, colágeno e gordura) do músculo LT
459 não foi influenciada pela inclusão ou não de *snaplage* na dieta (Tabela 4). Além disso,
460 não houve efeito entre as dietas e interação dieta \times tempo para pH, PPC, força de
461 cisalhamento e para os índices de cor L^* , a^* e b^* (Tabela 5) no músculo dos animais
462 alimentados com as dietas experimentais. No entanto, ocorreu efeitos relacionados ao
463 tempo de maturação, em que a perda de peso por cozimento e o pH aumentaram após 14
464 dias de maturação, enquanto a força de cisalhamento e o índice de cor a^* reduziram com
465 a maturação (Tabela 6). Da mesma forma os índices L^* e b^* aumentaram com a
466 maturação.

467

468 **4 DISCUSSÃO**

469 Um ponto importante sobre a *snaplage* é seu teor de fibra, uma vez que o pH
470 ruminal é fundamental para manter o marmoreio da carne. De acordo com Teixeira et al.
471 (2017) a queda no pH ruminal pode alterar a via da biohidrogenação, aumentando a
472 produção de C18:2 *trans* 10, *cis* 12, reduzindo assim a expressão do *SREBF1*, fator de
473 transcrição responsável por regular a expressão de enzimas chaves da síntese de gordura,
474 afetando negativamente a deposição de gordura de marmoreio (Hiller, Herdmann, &
475 Nuernberg, 2011). No entanto, a expressão do *SREBF1* não foi afetada pelas dietas, o que
476 pode explicar a ausência de efeito dos tratamentos sobre o teor de gordura intramuscular
477 na carne. Diante destes resultados, fica evidenciado que a alta degradabilidade do amido
478 nas dietas com *snaplage* não é o suficiente para reduzir a expressão do *SREBF1*, mesmo
479 quando este ingrediente compõe até 85% dieta. A explicação para este efeito pode ser a
480 maior concentração de FDNfe (fibra fisicamente efetiva) nas dietas com *snaplage*, que
481 continham 72% a mais desta fração (Tabela 2) e que continha grande proporção de amido
482 altamente fermentável no rúmen, comparado à dieta controle.

483 Por outro lado, apesar da ausência de efeito de *snaplage* sobre a expressão do
484 *SREBF1*, os dados de expressão gênica mostraram que esta silagem tem potencial para
485 aumentar a síntese de gordura intramuscular, devido às dietas que tem essa silagem
486 apresentarem uma maior percentagem de FDNfe. Segundo Kadegowda et al. (2009), o
487 CLA C18:2 *trans* 10, *cis* 12 também pode reduzir a expressão do *PPARG* e,
488 conseqüentemente, reduzir a absorção, diferenciação de pré-adipócitos e síntese de
489 lipídeos (Brown et al., 2003; Vyas et al. 2014). Como a expressão desse fator de
490 transcrição foi maior na dieta em que a única fonte de amido e FDN era a *snaplage*
491 (SNAP85), há evidências que esta silagem tem maior capacidade de manter o pH do
492 rúmen em níveis mais elevados e aumentar deposição de gordura intramuscular, isso

493 provavelmente devido ao seu maior teor de fibra fisicamente efetiva que a silagem de
494 planta inteira.

495 Além da maior expressão de *PPARG*, a maior expressão de *ACACA* e *SCDI*
496 também demonstra o potencial desta dieta para estimular a síntese de novo. Estes genes
497 são regulados por fatores de transcrição, como o *PPARG*, que tem correlação positiva
498 com *SCD* e *LPL* (Corazzin, Bovolenta, Saccà, Bianchi, & Piasentier, 2013), o que mostra
499 que esse fator de transcrição pode aumentar a expressão de genes envolvidos na
500 lipogênese, apesar de ser muito importante no controle da adipogênese (Takada,
501 Kouzmenko, & Kato, 2009). Teixeira et al. (2017) demonstraram também que *PPARG*
502 tem correlação com a maior expressão de *FABP4* e isso aconteceu em nossa dieta
503 SNAP85. De forma geral, esses resultados mostram que dietas com *snaplage* possuem
504 potencial maior de síntese *de novo* que dietas que utilizam silagem de grão de milho
505 reconstituído e silagem de planta inteira, devido à maior presença de fibra fisicamente
506 efetiva e consequente maior manutenção do pH. Apesar dos genes *ACACA* e *FASN*
507 apresentarem funções que se complementam na síntese de novo, segundo Dong et al.
508 (2014), as expressões desses dois genes não são reguladas coordenadamente, o que é
509 comprovado nesse estudo, uma vez que tiveram efeitos diferentes.

510 Comparando as dietas SNAP65 e SNAP85, a maior expressão do gene *FABP4*
511 nos animais SNAP85 pode estar relacionado também com a maior expressão do *PPARG*
512 nos animais alimentados com essa dieta, uma vez que Bionaz et al. (2013) e Teixeira et
513 al. (2017) relataram correlação positiva entre *FABP4* e *PPARG*. Além disso, Shin et al.
514 (2009) mostraram que na região promotora do *FABP4* há dois sítios de ligação destinado
515 ao *PPARG*. A expressão de *FABP4* pode ser um bom índice do potencial do animal em
516 produzir gordura de marmoreio (Moore, Ekeren, Lunt, & Smith, 1991) já que pode ser
517 usada como marcador de adipócitos intramusculares (Jurie et al., 2007). O fato de a

518 expressão de *FABP4* ter sido maior na dieta SNAP85 que na SNAP65 mostra que o
519 potencial de captação de ácidos graxos nos animais alimentados com *snaplage* é maior
520 quando essa silagem é utilizada sozinha na dieta, sem a presença de outras fontes de
521 amido.

522 Apesar das dietas com *snaplage* ter potencial para aumentar a síntese de gordura
523 intramuscular, a falta de efeitos entre as dietas sobre a gordura da carne dos animais pode
524 ser explicado também pela composição da *snaplage*. Segundo NASEM (2016) a
525 *snaplage* possui em torno de 52% amido e 23% de FDN (NASEM, 2016), essa
526 composição fez com que os níveis de amido e FDN das dietas experimentais fossem
527 similares (Tabela 2), permitindo que todas tivessem potencial de manutenção do pH do
528 rúmen. Esse resultado evidencia que a *snaplage* pode substituir a silagem de planta
529 inteira, a silagem de milho reconstituído e o milho moído nas dietas tradicionais de
530 confinamento sem alterar a composição química e qualidade da carne, assim como foi no
531 trabalho de Salvo et al. (2020), que utilizando *snaplage* em substituição a silagem de
532 planta inteira, não encontraram alteração no desempenho e nas características de carcaça
533 dos animais.

534 Outra explicação para o mesmo teor de gordura tem relação com o consumo dos
535 animais. De acordo com Smith & Crouse (1984) a deposição de gordura intramuscular é
536 dependente do conteúdo energético da dieta e da quantidade de energia ingerida, no
537 entanto quando se tem uma dieta muito densa energeticamente existe a possibilidade de
538 queda do pH do rúmen causando acidose subclínica. Vários fatores podem colaborar para
539 isso, dentre eles concentração de fibra fisicamente efetiva, concentração de amido e
540 degradabilidade ruminal do amido (Coon, Duffield, & DeVries, 2019; Kahyani et al.,
541 2019; Steele, Penner, & Chaucheyras-Durand, 2016).

542 É sabido que a oxidação da oximioglobina em metamioglobina gera
543 intermediários da oxidação lipídica, e ao mesmo tempo, produtos da oxidação lipídica
544 comprometem a coloração da carne, devido maior oxidação da mioglobina (Faustman,
545 Leibler, McClure & Sun, 1999). Marín-Garzón et al. (2020) avaliando regiões genômicas
546 de genes candidatos associados aos índices L*, a* e b*, encontraram um total de 30 genes
547 candidatos funcionais que afetam os índices de cor, entre eles, genes associados a
548 oxidação lipídica. Dessa forma, o fato de não termos encontrado efeito na expressão dos
549 genes associados com oxidação lipídica pode explicar a falta de diferença dos índices de
550 cor na carne.

551 Apesar da cor da carne não ter sido afetada pelas dietas, o aumento nos índices
552 L* e b* com o tempo de maturação é relatado em diversos trabalhos (AFRC, 1991;
553 Boakye & Mittal, 1996; Kim, Frandsen, & Rosenvold, 2011; Lagerstedt, Lundström, &
554 Lindahl, 2011; Vitale, Pérez-Juan, Lloret, Arnau, & Realini, 2014), e se deve à
555 diminuição da atividade respiratória das mitocôndrias, resultando em maior oxigenação
556 da molécula de mioglobina, o que aumenta os índice de luminosidade e amarelo (Aroeira
557 et al., 2017). Segundo Oliete et al. (2005), o aumento no valor de L* em função do período
558 de maturação pode ser consequência também da desintegração do disco Z do sarcômero,
559 o que leva a maior difusão de luz incidente e o aumento da luminosidade.

560 A diminuição do índice a* com 14 dia de maturação, pode estar relacionado com
561 o aumento do pH, durante o armazenamento, provocado pelo aumento de compostos
562 nitrogenados (Lee & Yoon, 2001), resultantes da proteólise das enzimas endógenas. Esse
563 processo favorece a formação de metamioglobina, ou seja, mudanças desses valores
564 podem estar relacionadas com alterações das formas da mioglobina da carne (Lindahl,
565 Lundström, & Tornberg, 2001). Segundo Aroeira et al. (2017) o valor de a* está

566 relacionado à oximioglobina ou seja, quanto maior a oxidação da carne maior o valor de
567 a^* .

568 Apesar de não ter ocorrido diferença na maciez da carne dos animais alimentados
569 com as diferentes dietas, houve melhoria na maciez com 14 dias de maturação. A redução
570 na força de cisalhamento com o tempo de maturação ocorre devido a mudanças químicas
571 e estruturais, como por exemplo, o aumento do comprimento do sarcômero, aumento da
572 atividade das enzimas proteolíticas e conseqüentemente aumento no índice de
573 fragmentação, redução da desnaturação proteica e perda da força de tensão do
574 componente muscular, devido à desintegração das bandas Z, e da ruptura da fibra
575 muscular (Godrim et al., 2011). Mesmo com 14 dias de maturação, a carne dos animais,
576 independente da dieta foi considerada de maciez intermediária (FC= 64.7), considerando
577 uma FC < 53N o limiar para uma carne ser considerada macia, e FC > 69 para uma carne
578 dura (Silva et al., 2015). A maciez intermediária, neste caso, é explicada pelo grupamento
579 genético utilizado neste estudo, a raça Nelore, uma vez que Teixeira (2018), avaliando
580 animais Nelore e Angus, encontraram que animais Nelore possuem menor maciez por
581 apresentar menor índice de fragmentação miofibrilar que pode ser devido a maior
582 atividade da enzima calpastatina nesses animais (Duarte et al. (2013).

583

584 **5 CONCLUSÃO**

585 O uso de *snapple*, em altas proporções em dietas de confinamento, tem a
586 capacidade de aumentar a expressão de genes lipogênicos e potencial para aumentar a
587 síntese *de novo* de gordura intramuscular. Entretanto, sua utilização em animais Zebuínos
588 não afeta a deposição de gordura intramuscular e alguns atributos qualitativos da carne,
589 como composição química, maciez e coloração.

590

591

592

593

594 **6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 595 AFRC. (1991). Voluntary intake of cattle (Report 8). *Nutrition Abstracts and Reviews*,
596 61(11), 816-823.
- 597 Akins, M., & Shaver, R. (2014). Effect of corn snaplage on lactation performance by
598 dairy cows. *The Professional Animal Scientist*, 30(1), 86-92.
- 599 AMSA, A. M. S. A.-. (1978). *Guidelines for cooking and sensory evaluation of meat*.
600 Paper presented at the American Meat Science Association, National Live Stock
601 and Meat Board, Chicago.
- 602 Aroeira, C. N., de Almeida Torres Filho, R., Fontes, P. R., Ramos, A. d. L. S., de Miranda
603 Gomide, L. A., Ladeira, M. M., & Ramos, E. M. (2017). Effect of freezing prior
604 to aging on myoglobin redox forms and CIE color of beef from Nellore and
605 Aberdeen Angus cattle. *Meat Science*, 125, 16-21.
- 606 Bauman, D. E., & Grinari, J. M. (2003). Nutritional regulation of milk fat synthesis.
607 *Annual Review Nutrition*, 23, 203-227.
- 608 Bernardes, T., & Castro, T. (2019). PSXII-12 Silages and roughage sources in the
609 Brazilian beef feedlots. *Journal of Animal Science*, 97(Supplement_3), 411-411.
- 610 Boakye, K., & Mittal, G. (1996). Changes in colour of beef M. longissimus dorsi muscle
611 during ageing. *Meat Science*, 42(3), 347-354.
- 612 Coon, R., Duffield, T., & DeVries, T. (2019). Risk of subacute ruminal acidosis affects
613 the feed sorting behavior and milk production of early lactation cows. *Journal of*
614 *Dairy Science*, 102(1), 652-659.
- 615 Corazzin, M., Bovolenta, S., Saccà, E., Bianchi, G., & Piasentier, E. (2013). Effect of
616 linseed addition on the expression of some lipid metabolism genes in the adipose
617 tissue of young Italian Simmental and Holstein bulls. *Journal of Animal Science*,
618 91(1), 405-412.
- 619 Dodson, M. V., Hausman, G. J., Guan, L., Du, M., Rasmussen, T. P., Poulos, S. P., . . .
620 McFarland, D. C. (2010). Lipid metabolism, adipocyte depot physiology and
621 utilization of meat animals as experimental models for metabolic research.
622 *International Journal of Biological Sciences*, 6(7), 691. doi:
623 doi:10.7150/ijbs.6.691
- 624 Dong, G.-F., Zou, Q., Wang, H., Huang, F., Liu, X.-C., Chen, L., . . . Yang, Y.-o. (2014).
625 Conjugated linoleic acid differentially modulates growth, tissue lipid deposition,
626 and gene expression involved in the lipid metabolism of grass carp. *Aquaculture*,
627 432(0), 181-191.
- 628 Duarte, M. S., Martins, T. S., Paulino, P. V. R., Chizotti, M. L., Ladeira, M. M., Filho, R.
629 A. T., . . . Gomes, R. A. (2013, 18-23 August 2013). *Calpastatin activity and beef*
630 *tenderness of Nellore and Angus cattle fed two feeding strategies*. Paper presented
631 at the 59th International Congress of Meat Science and Technology, Izmir,
632 Turkey.
- 633 Faustman, C., Liebler, D. C., McClure, T. D., & Sun, Q. (1999). α , β -Unsaturated
634 aldehydes accelerate oxymyoglobin oxidation. *Journal of Agricultural and Food*
635 *Chemistry*, 47(8), 3140-3144.

- 636 Godrim, J. S., Faria, D. S. d., Barros, L. H. d. A., Morais, J. C. F. d., Francisco, W. d. C.,
637 Cardoso, T. d. A. B., . . . Fagan, E. (2011). *Efeito do tempo de maturação na*
638 *maciez da carne bovina*. Paper presented at the Congresso Brasileiro de
639 Zootecnia, Maceió.
- 640 Hiller, B., Herdmann, A., & Nuernberg, K. (2011). Dietary n-3 Fatty Acids Significantly
641 Suppress Lipogenesis in Bovine Muscle and Adipose Tissue: A Functional
642 Genomics Approach. [journal article]. *Lipids*, 46(7), 557-567.
- 643 Jurie, C., Cassar-Malek, I., Bonnet, M., Leroux, C., Bauchart, D., Boulesteix, P., . . .
644 Hocquette, J. F. (2007). Adipocyte fatty acid-binding protein and mitochondrial
645 enzyme activities in muscles as relevant indicators of marbling in cattle. *Journal*
646 *Animal Science*, 85, 2660-2669.
- 647 Kahyani, A., Ghorbani, G., Alikhani, M., Ghasemi, E., Sadeghi-Sefidmazgi, A., &
648 Nasrollahi, S. (2019). Adjusting for 30-hour undigested neutral detergent fiber in
649 substitution of wheat straw and beet pulp for alfalfa hay and corn silage in the diet
650 of high-producing cows. *Journal of Dairy Science*, 102(8), 7026-7037.
- 651 Kim, Y. H. B., Frandsen, M., & Rosenvold, K. (2011). Effect of ageing prior to freezing
652 on colour stability of ovine longissimus muscle. *Meat Science*, 88(3), 332-337.
- 653 Ladeira, M. M., Schoonmaker, J. P., Gionbelli, M. P., Dias, J., Gionbelli, T. R. S.,
654 Carvalho, J. R. R., & Teixeira, P. D. (2016). Nutrigenomics and Beef Quality: A
655 Review about Lipogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6),
656 918.
- 657 Lagerstedt, Å., Lundström, K., & Lindahl, G. (2011). Influence of vacuum or high-
658 oxygen modified atmosphere packaging on quality of beef M. longissimus dorsi
659 steaks after different ageing times. *Meat Science*, 87(2), 101-106.
- 660 Lee, K.-T., & Yoon, C.-S. (2001). Quality changes and shelf life of imported vacuum-
661 packaged beef chuck during storage at 0°C. *Meat Science*, 59(1), 71-77.
- 662 Lindahl, G., Lundström, K., & Tornberg, E. (2001). Contribution of pigment content,
663 myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from
664 pure breed pigs. *Meat Science*, 59(2), 141-151.
- 665 Marín-Garzón, N. A., Magalhães, A. F. B., Mota, L. F., Fonseca, L. F. S., Chardulo, L.
666 A. L., & Albuquerque, L. G. (2020). Genome-wide association study identified
667 genomic regions and putative candidate genes affecting meat color traits in
668 Nellore cattle. *Meat Science*, 108288.
- 669 Mertens, D. (1997). Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows.
670 *Journal of Dairy Science*, 80(7), 1463-1481.
- 671 Moore, K., Ekeren, P., Lunt, D., & Smith, S. (1991). Relationship between fatty acid-
672 binding protein activity and marbling scores in bovine longissimus muscle.
673 *Journal of Animal Science*, 69(4), 1515-1521.
- 674 NASEM. (2016). *Nutrient Requirements of Beef Cattle* (Eighth Revised Edition ed.).
675 Washington, DC: National Academies Press.
- 676 Obsen, T., Faergeman, N. J., Chung, S., Martinez, K., Gobern, S., Loreau, O., . . .
677 McIntosh, M. (2012). Trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid decreases de novo
678 lipid synthesis in human adipocytes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(6),
679 580-590.
- 680 Oliete, B., Moreno, T., Carballo, J. A., Varela, A., Monserrat, L., & Sánchez, L. (2005).
681 Influence of ageing time on the quality of yearling calf meat under vacuum.
682 *European Food Research and Technology*, 220(5-6), 489-493.
- 683 Oliveira, D. M., Chalfun-Junior, A., Chizzotti, M. L., Barreto, H. G., Coelho, T. C., Paiva,
684 L. V., . . . Ladeira, M. M. (2014). Expression of genes involved in lipid

- 685 metabolism in the muscle of beef cattle fed soybean or rumen-protected fat, with
686 or without monensin supplementation. *Journal of Animal Science*.
- 687 Ramos, E. M., & Gomide, L. A. M. (2007). Avaliação da qualidade de carne:
688 fundamentos e metodologias. E. M. Ramos (Ed.) (pp. 599).
- 689 Salvo, P. A. R., Gritti, V. C., Daniel, J. L. P., Martins, L. S., Lopes, F., Santos, F. A. P.,
690 & Nussio, L. G. (2020). Fibrolytic enzymes improve the nutritive value of high-
691 moisture corn for finishing bulls. *Journal of Animal Science*, 98(2), skaa007.
- 692 Silva, D. R., de Moura, A. P. R., Ramos, A. L., & Ramos, E. M. (2017). Comparison of
693 Warner-Bratzler shear force values between round and square cross-section cores
694 for assessment of beef Longissimus tenderness. *Meat Science*, 125, 102-105.
- 695 Silva, D. R. G., Torres Filho, R. A., Cazedey, H. P., Fontes, P. R., Ramos, A. L. S., &
696 Ramos, E. M. (2015). Comparison of Warner-Bratzler shear force values between
697 round and square cross-section cores from cooked beef and pork Longissimus
698 muscle. *Meat Science*, 103, 1-6.
- 699 Smith, S. B., Blackmon, T. L., Sawyer, J. E., Miller, R. K., Baber, J. R., Morrill, J. C., . .
700 . Wickersham, T. A. (2018). Glucose and acetate metabolism in bovine
701 intramuscular and subcutaneous adipose tissues from steers infused with glucose,
702 propionate, or acetate. *Journal of Animal Science*, 96(3), 921-929.
- 703 Steele, M. A., Penner, G. B., & Chaucheyras-Durand, F. (2016). Development and
704 physiology of the rumen and the lower gut: Targets for improving gut health.
705 *Journal of Dairy Science*, 99(6), 4955-4966.
- 706 Takada, I., Kouzmenko, A. P., & Kato, S. (2009). Wnt and PPAR[gamma] signaling in
707 osteoblastogenesis and adipogenesis. [10.1038/nrrheum.2009.137]. *Nature*
708 *Reviews Rheumatology*, 5(8), 442-447.
- 709 Teixeira, P.D. (2018). Qualitative characteristics of beef from Nellore, Angus and their
710 crossbred fed whole shelled corn diets. Tese, Universidade Federal de Lavras
- 711 Teixeira, P. D., Oliveira, D. M., Chizzotti, M. L., Chalfun-Junior, A., Coelho, T. C.,
712 Gionbelli, M. P., . . . Ladeira, M. M. (2017). Subspecies and diet affect the
713 expression of genes involved in lipid metabolism and chemical composition of
714 muscle in beef cattle. *Meat Science*, 133(Supplement C), 110-118.
- 715 Vitale, M., Pérez-Juan, M., Lloret, E., Arnau, J., & Realini, C. (2014). Effect of aging
716 time in vacuum on tenderness, and color and lipid stability of beef from mature
717 cows during display in high oxygen atmosphere package. *Meat Science*, 96(1),
718 270-277.
- 719 Zhang, H., & Guan, W. (2019). The response of gene expression associated with
720 intramuscular fat deposition in the longissimus dorsi muscle of Simmental×
721 Yellow breed cattle to different energy levels of diets. *Animal Science Journal*,
722 90(4), 493-503.

723 Tabela 1. Composição percentual de ingredientes e centesimal das dietas de adaptação

Dieta de adaptação					
Dias	Dieta (Exp.)	Bagaço	Farelo de soja	%FDN	%PB
Dia 0 - 5	75	18	7	35	14,5
Dia 5 - 10	83,3	12	4,7	32	14,5
Dia 10 - 15	91,7	6	2,3	29	14,5

724

725

726 Tabela 2. Composição percentual de ingredientes e centesimal das dietas experimentais

Ingredientes (% da MS)	COM	SNAP 1	SNAP 2
<i>Snaplage</i>	0,0	65,00	85,00
Silagem de milho	22,89	0,0	0,0
Milho grão reidratado	42,11	0,0	0,0
Milho grão cru moído	20,00	20,00	0,0
Farelo de algodão	3,30	3,30	3,30
Farelo de soja	7,57	7,57	7,57
Ureia	0,90	0,90	0,90
Enxofre 70S	0,03	0,03	0,03
Núcleo	3,20	3,20	3,20
Composição (% da MS)			
PB	14,56	14,35	14,10
PDR	9,40	9,19	9,24
PNDR	5,15	5,16	4,86
EE	3,29	3,56	3,54
FDN	20,0	21,30	23,69
FDNfe	14,69	17,86	24,35
Amido	51,31	51,31	48,24
Amido fermentável	76,47	76,47	100
Relação amido/FDN	2,56	2,41	2,04
NDT	76,16	76,14	74,44

Tabela 3. Sequência (5' para 3') e eficiência dos primers que foram utilizados na PCR quantitativa e tempo real

Símbolo	Nome	Forward (F) 5'e Reverse 5'(R)	Número de acesso	Amplicon (pb)	R²	Eficiência
<i>PPARA</i>	<i>Receptor ativado por proliferador de peroxissomas α</i>	F CAATGGAGATGGTGGACACA R TTGTAGGAAGTCTGCCGAGAG	NM_001034036.1	95	0.992	99.2
<i>PPARG</i>	<i>Receptor ativado por proliferador de peroxissomas gamma</i>	F GCAATCAAAGTGGAGCCTGT R CCATGAGGGAGTTGGAAGG	NM_181024.2	83	0.989	99
<i>SREBF1</i>	<i>Elementos reguladores de esteroide ligados a proteína</i>	F GAGCCACCCTTCAACGAA R TGTCTTCTATGTCGGTCAGCA	NM_001113302.1	88	0.985	94.6
<i>SCD1</i>	<i>stearoyl-CoA desaturase</i>	F ACCATCACAGCACCTCCTTC R ATTCAGGGCGGATGTCTTC	NM_173959.4	95	0.999	98
<i>ACACA</i>	<i>Acetil CoA carboxilase</i>	F TGAAGAAGCAATGGATGAACC R TTCAGACACGGAGCCAATAA	NM_174224.2	88	0.994	96.6
<i>LPL</i>	<i>Lipoproteína lipase</i>	F CTCAGGACTCCCGAAGACAC R GTTTTGCTGCTGTGGTTGAA	NM_001075120.1	98	0.99	96.7
<i>FABP4</i>	<i>fatty acid binding protein 4</i>	F GGATGGAAAATCAACCACCA R GTGGCAGTGACACCATTCAT	NM_174314.2	84	0.995	97
<i>FASN</i>	<i>Ácido graxo sintase</i>	F ATCAACTCTGAGGGGCTGAA R CAACAAAAGTGGTGCTCACG	U34794.1	83	0.974	99.5
<i>ACOX</i>	<i>Acil-coenzima A oxidase 1</i>	F GCTGTCCTAAGGCGTTTGTG R ATGATGCTCCCCTGAAGAAA	BC102761.2	83	0.994	99
<i>CPT2</i>	<i>carnitine palmitoyltransferase 2</i>	F CTATTCCCAAAGTGAAGAC R TTTTCTGAAGTGGCTGTCA	NM_001045889.2	81	0.997	100
<i>ACTB</i>	<i>β-actina</i>	F GTCCACCTTCCAGCAGATGT R CAGTCCGCCTAGAAGCATT	NM_173979.3	90	0.998	100
<i>GAPDH</i>	<i>Gliceraldeído 3-fosfato Desidrogenase</i>	F CATTGCCCTCAACGACCACTT R TCCACCACCCTGTTGCTGTA	NM_001034034.1	78	0.995	98

Tabela 4. Composição química da carne de tourinhos Nelore alimentados ou não com dietas à base de *snaplage*

Item, %	Tratamentos			EPM	P-valor
	Controle	Snap 1	Snap 2		
Colágeno	1.64	1.55	1.71	0.053	0.12
Proteína	21.5	21.6	21.8	0.168	0.52
Gordura	2.48	2.60	2.50	0.262	0.93
Umidade	73.8	73.7	73.6	0.199	0.69
Matéria Mineral	2.46	2.39	2.22	0.101	0.18

Tabela 5. Características qualitativas da carne de tourinhos Nelore alimentados ou não com dietas à base de *snaplage*

Item	Controle	SNAP65	SNAP85	EPM	P-valor
pH	5.57	5.58	5.55	0.021	0.71
PPC, %	23.3	22.9	22.6	0.747	0.82
L*	41.3	41.6	41.9	0.511	0.52
a*	17.5	17.6	18.3	0.289	0.14
b*	12.8	12.7	13.4	0.253	0.11
FC, N	75.5	69.3	71.0	0.301	0.32

PPC: Perda de peso por cozimento; FC: Força de cisalhamento

Tabela 6. Características qualitativas da carne de tourinhos Nelore alimentados ou não com dietas à base de *snaplage* em diferentes tempos de maturação.

Item	Tempo 0	Tempo 14	EPM	P-valor
pH	5.55	5.58	0.01	0.04
PPC, %	19.6	26.1	0.56	<0.01
L*	41.0	41.8	0.34	0.03
a*	18.6	16.9	0.28	<0.01
b*	12.5	13.4	0.18	<0.01
FC, N	79.2	64.7	2.131	<0.01

PPC: Perda de peso por cozimento; FC: Força de cisalhamento

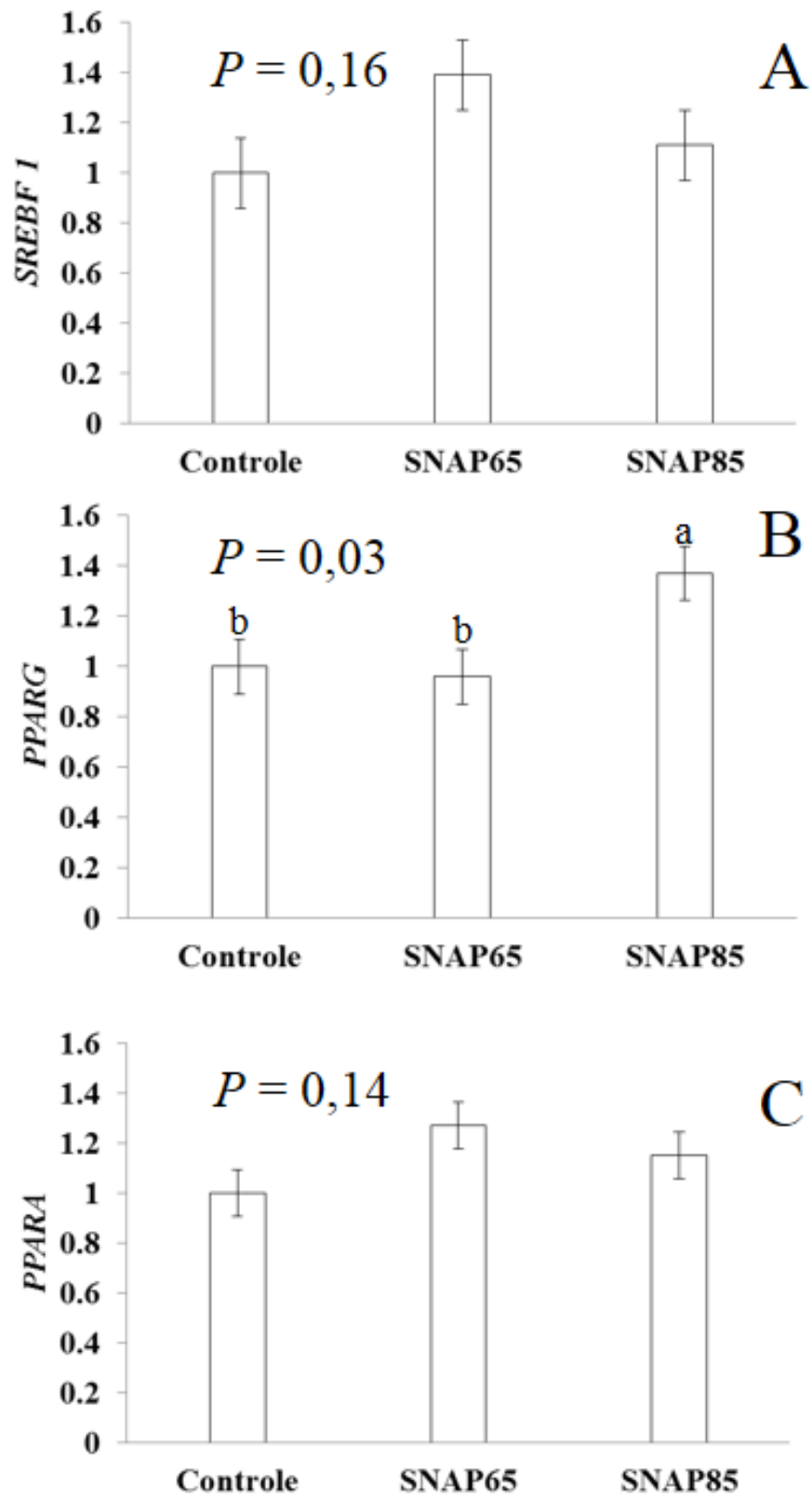


Figura 1. Expressão relativa dos genes *SREBF1* (A), *PPARG* (B) e *PPARA* (C) no músculo *longissimus thoracis* de tourinhos Nelore, alimentados ou não com *snapple*

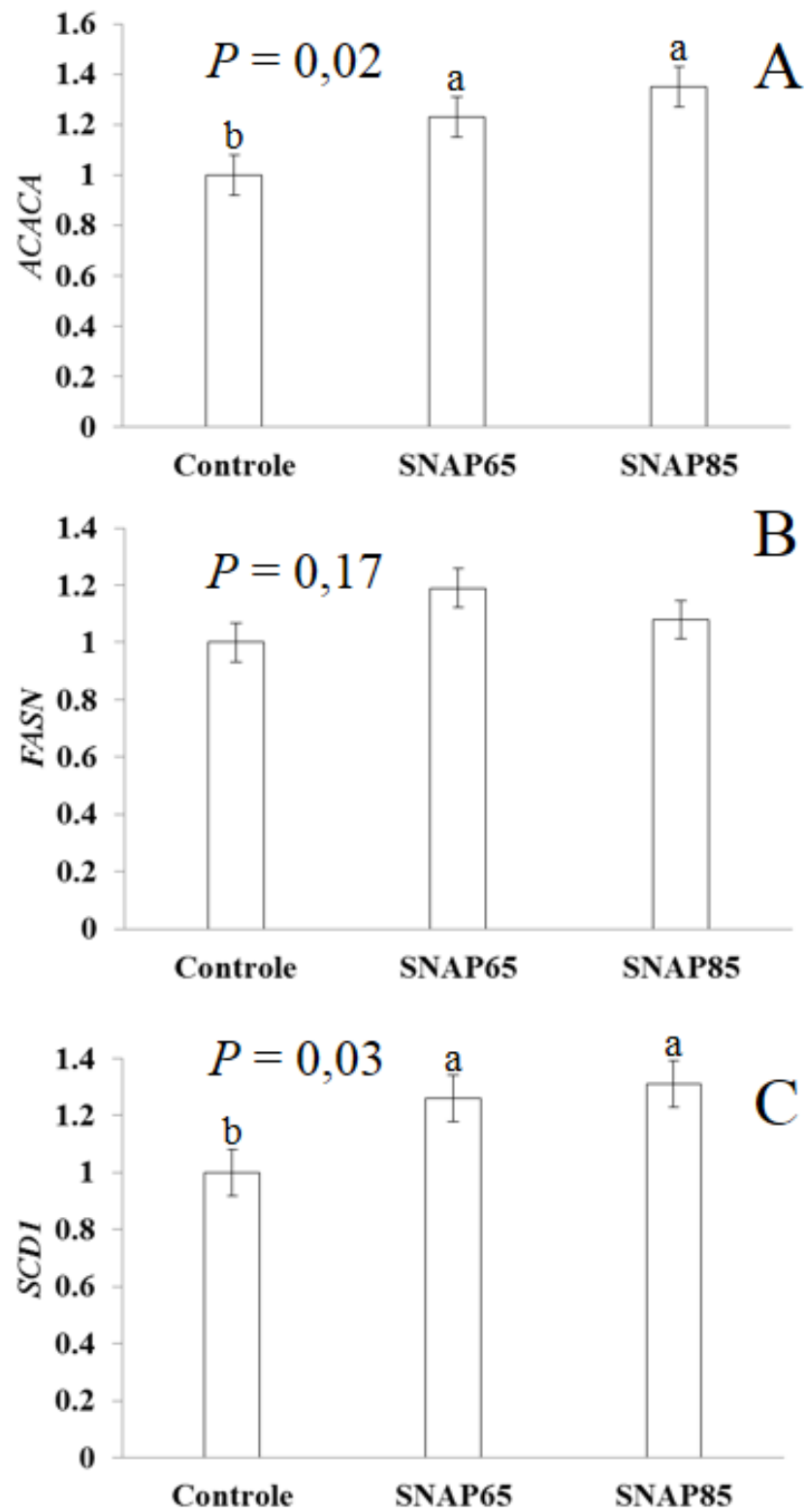


Figura 2. Expressão relativa dos genes *ACACA* (A), *FASN* (B) e *SCD1* (C) no músculo *longissimus thoracis* de tourinhos Nelore, alimentados ou não com snaplage

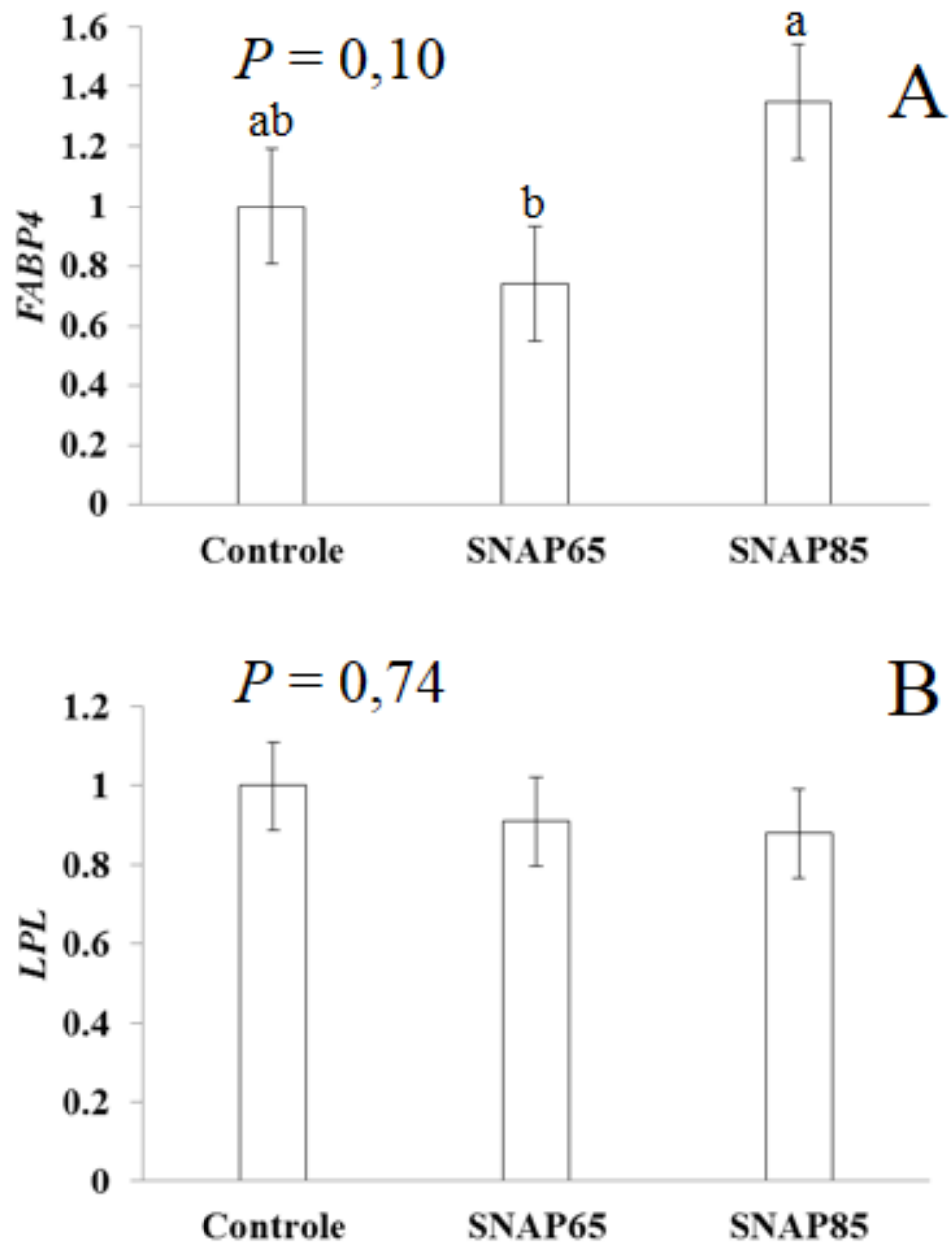


Figura 3. Expressão relativa dos genes *FABP4* (A) e *LPL* (B) no músculo *longissimus thoracis* de tourinhos Nelore, alimentados ou não com snaplage

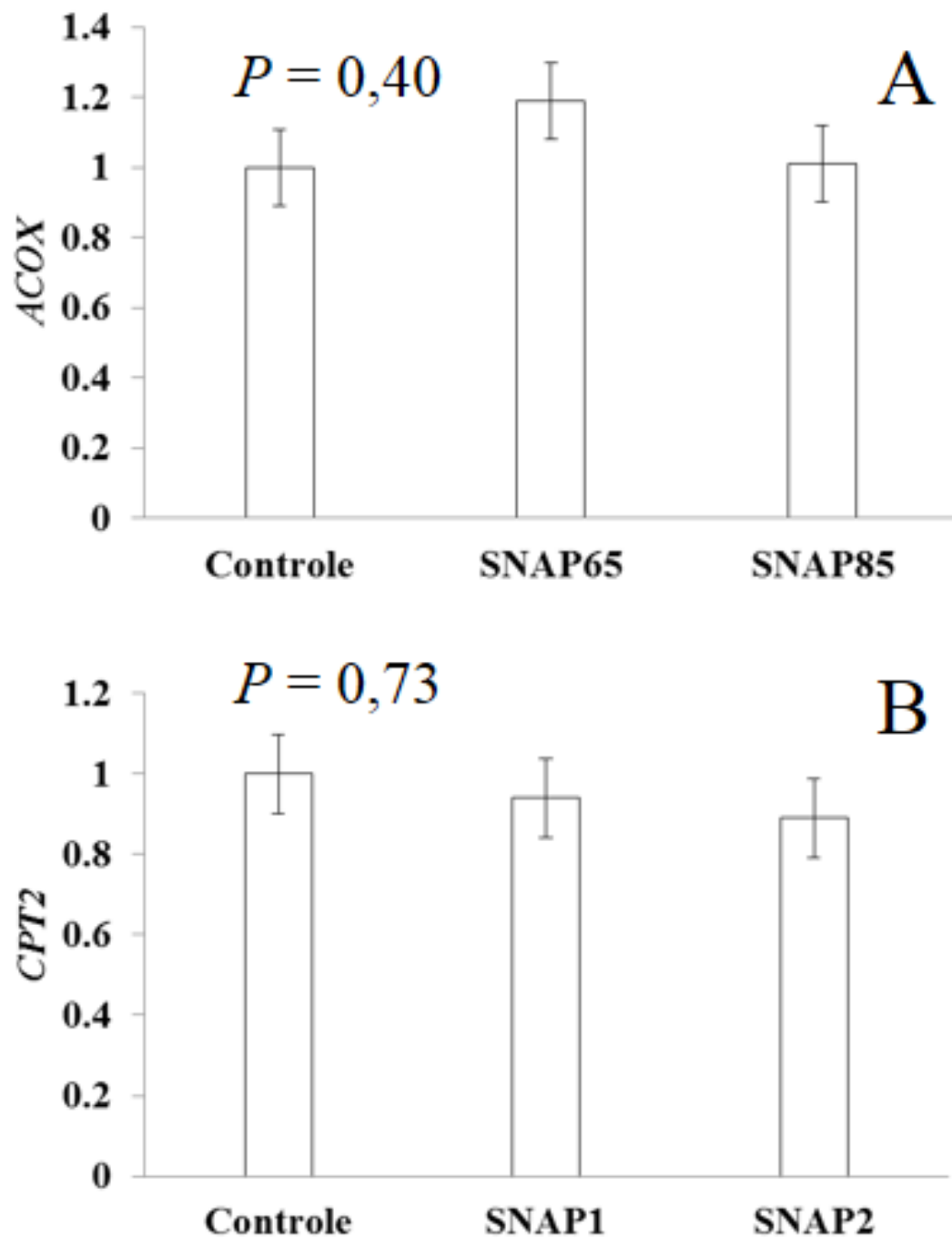


Figura 4. Expressão relativa dos genes *ACOX* (A) e *CPT2* (B) no músculo *longissimus thoracis* de tourinhos Nelore, alimentados ou não com snaplage